



**Universidad Politécnica de Cartagena**

**Departamento de Ingeniería de los Alimentos y  
del Equipamiento Agrícola**

**Evaluación del empleo de miel artesanal en  
la conservación de carne picada de ternera**

**M<sup>a</sup> Dolores Rojo Cortina**

Directores

**Paula M<sup>a</sup> Periago Bayonas**

**Cristina de Lorenzo Carretero**

**2013**





Universidad  
Politécnica  
de Cartagena

## **Evaluación del empleo de miel artesanal en la conservación de carne picada de ternera**

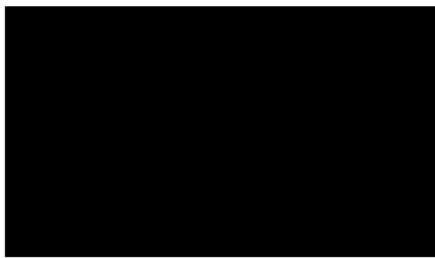




\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_







## **AGRADECIMIENTOS:**

En primer lugar quisiera agradecer a mis directores de tesis Dra. Paula M<sup>a</sup> Periago Bayonas y Dra. Cristina de Lorenzo Carretero el haber podido realizar este trabajo.

Al Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural Agrario y Agroalimentario (IMIDRA) por la beca predoctoral concedida.

En segundo lugar quisiera expresar mi agradecimiento a todas las personas que lo han hecho posible, mi familia, compañeros/as, amigos e investigadores.



**A mis sobrinos**





## **Resumen.**

Desde la antigüedad, el hombre ha utilizado diferentes sustancias para alargar todo lo posible la vida útil de los alimentos. Los alimentos están sometidos a cambios o alteraciones que los hacen inaceptables para el consumidor. En particular, la carne y sobre todo, la carne picada, es un producto perecedero con una vida útil corta.

Actualmente, la industria alimentaria utiliza tecnologías tales como la temperatura (frío y calor), envasados (aire, vacío, atmósferas modificadas), la adición de sustancias (antioxidantes, colorantes, etc) que pueden actuar como conservantes o la combinación de ello. En carne y productos cárnicos, además de las tecnologías anteriormente descritas, se ha utilizado la incorporación de antioxidantes en la dieta de animales.

Sin embargo, el uso de sustancias sintéticas en alimentos en concreto, en carne, ha sido sustituido por nuevas sustancias naturales, debido a la preocupación del consumidor por su salud.

Una de estas sustancias podría ser la miel. La miel ha sido utilizada como endulzante y alimento saludable desde la antigüedad. Tiene diferentes propiedades

debido a su composición. Se han realizado ensayos mostrando el posible papel antioxidante y antimicrobiano de la miel.

Por ello, el objetivo principal de esta tesis ha consistido en conocer el posible efecto beneficioso de la miel artesanal, basado en sus propiedades (antioxidante y antibacteriana), como conservante alimentario, particularmente sobre carne de vacuno picada refrigerada, cruda o cocinada, combinada con diferentes sistemas de envasado (aire, vacío y atmósferas modificadas).

Para ello, este objetivo principal se dividió en objetivos parciales:

En el capítulo 3, se analizaron los parámetros físico-químicos así como la actividad biológica (capacidad antioxidante y antibacteriana no-peroxídica) de las mieles seleccionadas.

En los capítulos 4, 5 y 6 se estudió el posible efecto beneficioso de la miel junto con distintos tipos de envasado (aire, a vacío o en atmósfera modificada) sobre la conservación de falda de ternera picada almacenada en refrigeración. En el capítulo 7 se comparó el efecto de distintos tratamientos (miel y envasado) aplicados en los capítulos anteriores (4, 5 y 6), sobre falda de ternera picada **cruda** envasada en aire y almacenada en refrigeración.

En el capítulo 8, se estudió el posible efecto de una miel artesanal junto con los distintos tipos de envasado (aire, vacío y atmósfera modificada) sobre la conservación de falda de ternera picada **cocinada** almacenada en refrigeración. Finalmente, se estudió la aceptación del producto por parte del consumidor.

## **Abstract.**

Since ancient times, man has used different substances to extend as long as possible the shelf life of foods. Foods are subjected to changes or alterations that make them unacceptable to consumer. Particularity meat, and especially minced meat, is a perishable product with a short shelf life.

Today, the food industry uses technologies such as the temperature (cold and hot), packing (air, vacuum, modified atmosphere), addition of substances (antioxidants, colorants, etc) that can act like preservatives or the combination of them. On meat and meat products, moreover of the technologies before describes, it has used the incorporation of supplementary antioxidants on animals feed.

However, the use of synthetic substances on foods and in this case, on meat, has been substituted by new natural substances because of the consumer concern health.

One of them could be the honey. Honey has been used as a sweetener and a healthy food from ancient time. It has different properties because of its composition. It has been done assays showing the possible antioxidant and antimicrobial role of honey.

For it, the main objective of this thesis was the use of artisanal honey, based on its properties (antioxidant and antibacterial) like a food preservative, particularly on refrigerated minced beef brisket, raw and cooked, combined with different packaging systems (air, vacuum and modified atmosphere).

For this, this objective was divided in partial objectives:

In chapter 3, it was analyzed the physico-chemical characteristics and biological activity (antioxidant and non-peroxidic antibacterial capacity) of selected honeys.

In chapters 4, 5 and 6 it was studied the possible beneficial paper of honey with different packaging systems (air, vacuum, modified atmosphere) on conservation of minced beef brisket store under refrigeration. In chapter 7 it was compared the possible effect of different treatments (honey and packaging) applicated in previous chapters (4, 5 and 6) on **raw** meat stored under refrigeration. In chapter 8, it was studied the possible beneficial paper of an artisanal honey with different packaging systems (air, vacuum, modified atmosphere) on conservation of **cooked** minced beef brisket stored under refrigeration. Finally, it was studied the product opinion consumer.

## ABREVIATURAS

**(L):** líquida

**(D):** deshidratada

**µg:** microgramo(s)

**µL:** microlitro(s)

**a. C.:** antes de Cristo

**Ác.:** Ácido

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico

**AM:** microorganismos aerobios mesófilos totales

**ARN:** Ácido ribonucleico

**a<sub>w</sub>:** actividad de agua

**BAL:** bacterias ácido lácticas

**BOE:** Boletín Oficial del Estado

**BHA:** butylhydroxyanisol (butilhidroxianisol)

**BHT:** butylhydroxytoluene (butilhidroxitolueno)

**C:** carbono

**CAR/PDMS:** Carboxen/polydimethylsiloxane (carboxen/polidimetilsiloxano)

**CE:** Comisión Europea

**CECT:** Colección Española de Cultivos Tipo

**cm:** centímetro

**cm<sup>2</sup>:** centímetro (s) cuadrado (s)

**CO<sub>2</sub>:** dióxido de carbono

**SEM:** Scanning Electron Microscopy (microscopía electrónica de barrido)

**DVB:** Divinylbenzene (divinilbenceno)

**DOUE:** Diario Oficial de la Unión Europea

**DPPH•:** 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (1,1-difenil-2-picrilhidracil)

**E.C.:** Enzyme Commission (Comisión de enzimas)

**EDTA:** etilendiaminotetraacetato

**ENT:** enterobacterias

**FAO:** Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)

**g:** gramo(s)

**GC:** Gas Chromatograph (Cromatógrafo de Gases)

**GP:** Galato de Propilo

**h:** hora (s)

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** peróxido de hidrógeno

**HCl:** ácido clorhídrico

**HyL:** hongos filamentosos y levaduras

**kcal:** kilocaloría (s)

**KCl:** cloruro potásico

**kg:** kilogramo(s)

**L:** litro(s)

**Log:** logaritmo

**MA:** miel artificial

**MAP:** modified atmosphere packaging (envasado en atmósfera modificada)

**MDA:** malonaldehyde (malonaldehído)

**mg:** miligramo (s)

**meq:** miliequivalente (s)

**min:** minuto (s)

**mL:** mililitro(s)

**mm:** milímetro (s)

**MA:** miel artificial

**MR:** miel de romero comercial

**MRPs:** Maillard Rection Products (Productos de la Reacción de Maillard)

**MRS:** Man, Rogosa y Sharpe

**mS:** miliSiemen

**N<sub>2</sub>:** nitrógeno

**NaCl:** cloruro sódico

**NaOH:** hidróxido sódico

**ng:** nanogramo(s)

**NHB** National Honey Board

**NIST** National Institute of Standars and Technology (Instituto Nacional de Estándares y Tecnología)

**nm:** nanómetro(s)

**nº:** número

**°C:** grado centígrado(s)

**O<sub>2</sub>:** oxígeno

**p:** peso

**PA:** Polyacrylate (Poliacrilato)

**PCA:** Plate Count Agar

**ppm:** partes por millón

**PTFE:** polytetraflouroethylene (politetrafluoroetileno)

**RB:** Rosa de Bengala

**RD:** Real Decreto

**rpm:** revolución (es) por minuto

**s:** segundo (s)

**SPME:** Solid Phase Microextraction (Microextracción en Fase Sólida)

**TBA:** Thiobarbituric Acid (Ácido Tiobarbitúrico)

**TBARS:** Thiobarbituric Acid Reactive Substances (Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico)

**TBHQ:** tertiary butil hydroquinone (butil hidroxiquinona terciaria)

**TCA:** Trichloroacetic Acid (Ácido Tricloroacético)

**TEP:** 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (1,1,3,3,-Tetraetoxipropano)

**tr:** tiempo de retención

**UA:** unidad (es) arbitraria (s)

**ufc:** unidad (es) formadora (s) de colonia (s)

**v:** volumen

**VRBG:** Violet Red Bile Glucosa (Bilis-Rojo Violeta con Glucosa)

**WOF:** Warmed Over Flavor





# ÍNDICE



<b>Resumen.</b>	<b>i</b>
<b>Abstract.</b>	<b>iii</b>
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>v</b>
<b>ÍNDICE</b>	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>xviii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>xxi</b>
<b>Capítulo 1: Justificación</b>	<b>1</b>
1.1. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA.	1
1.2. OBJETIVOS.	3
1.3. ESTRUCTURA DEL DOCUMENTO.	4
<b>Capítulo 2: Antecedentes</b>	<b>5</b>
2.1. MIEL.	7
2.1.1. Historia.	7
2.1.2. Definición. Parámetros de calidad.	9
2.1.3. Composición.	15
2.1.4. La flora microbiana.	18
2.1.5. Propiedades.	21
2.1.5.1. Propiedad nutritiva.	21
2.1.5.2. Propiedad antioxidante.	22
2.1.5.3. Propiedad antimicrobiana.	23
2.1.6. Uso.	24
2.1.7. Cristalización.	25
2.2. CARNE.	26
2.2.1. Historia.	26
2.2.2. Definición.	27
2.2.3. Composición.	28
2.2.4. Calidad de la carne.	29
2.3. ALTERACIÓN DE LOS ALIMENTOS.	31
2.3.1. Definición.	31
2.3.2. Principales causas de alteración de los alimentos.	31
2.3.2.1. Agentes físicos.	31
2.3.2.2. Agentes químicos.	32
2.3.2.2.1. Pardeamiento no enzimático: reacción de Maillard.	32
2.3.2.2.2. Enranciamiento de lípidos.	33
2.3.2.3. Agentes biológicos.	35
2.3.2.3.1. Intrínsecos: enzimas.	36

2.3.2.3.2. Extrínsecos.....	36
2.3.2.3.2.1. Parásitos o competidores naturales.....	36
2.3.2.3.2.2. Microorganismos.....	36
2.4. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN.....	43
2.4.1. Introducción.....	43
2.4.2. Métodos de conservación físicos.....	45
2.4.2.1. Térmicos.....	45
2.4.2.1.1. Aplicación de frío.....	45
2.4.2.1.2. Aplicación de calor.....	46
2.4.2.2. Deshidratación.....	47
2.4.2.3. Irradiación.....	48
2.4.3. Métodos de conservación químicos.....	48
2.4.3.1. Salazón.....	48
2.4.3.2. Adición de azúcar.....	49
2.4.3.3. Curado.....	49
2.4.3.4. Fermentación.....	49
2.4.3.5. Aditivos.....	49
2.4.3.5.1. Antioxidantes.....	50
2.4.3.5.1.1. Antioxidantes sintéticos.....	50
2.4.3.5.1.2. Antioxidantes naturales.....	52
2.4.3.5.2. Conservadores.....	56
2.4.4. Envasado.....	58
2.4.4.1. Envasado a vacío.....	59
2.4.4.2. Envasado en atmósfera modificada.....	60
2.5. PLATOS PREPARADOS.....	61
2.6. MÉTODOS DE MEDIDA.....	64
2.6.1. Método de captura del radical DPPH•.....	64
2.6.2. Método TBARS.....	65
2.6.3. Medida de componentes volátiles: Microextracción en fase sólida.....	66
2.6.4. Estudio estructural: microestructura de alimentos.....	67
2.7. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES.....	69
<b>Capítulo 3: La actividad biológica de la miel.....</b>	<b>75</b>
3.1. INTRODUCCIÓN.....	77
3.1.1. Propiedad antioxidante.....	78
3.1.2. Propiedad antimicrobiana.....	79
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	81
3.2.1. Muestras.....	81
3.2.2. Análisis físico-químicos de la miel.....	81
3.2.2.1. Medida de pH y acidez de la miel.....	81
3.2.2.2. Contenido en humedad de la miel.....	82
3.2.2.3. Determinación de la conductividad eléctrica de la miel.....	82
3.2.2.4. Contenido en cenizas de la miel.....	83

xiii

4.3.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración. ....	109
4.3.2.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el valor de pH de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración. ....	109
4.3.2.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la actividad de agua de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración. ....	110
4.3.2.3. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el color de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración. ....	111
4.3.3. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración. ....	114
4.3.4. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la carga microbiana de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración. ....	115
4.3.5. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración. ....	117
4.3.6. Estudio estructural de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración. ....	123
<b>Capítulo 5: Empleo de miel artesanal sobre la conservación de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración .....</b>	<b>129</b>
5.1. INTRODUCCIÓN.....	131
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	133
5.2.1. Muestras. ....	133
5.2.2. Preparación de miel en polvo o deshidratada. ....	133
5.2.3. Análisis físico-químicos de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración. ....	134
5.2.3.1. Medida de los valores de pH de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración. ....	134
5.2.3.2. Medida del color de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración.....	134
5.2.4. Medida de la oxidación lipídica de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración. ....	134
5.2.5. Análisis microbiológico de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración. ....	134
5.2.6. Análisis de compuestos volátiles de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración. ....	135
5.2.7. Análisis estadístico. ....	135
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	136
5.3.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración.....	136
5.3.1.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el valor de pH de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración. ....	136
5.3.1.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el color de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración. ....	137
5.3.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración. ....	140

5.3.3. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la carga microbiana de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración. ....	142
5.3.4. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración. ....	143
<b>Capítulo 6: Empleo de miel artesanal sobre la conservación de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración.....</b>	<b>151</b>
6.1. INTRODUCCIÓN.....	153
6.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	155
6.2.1. Muestras. ....	155
6.2.2. Preparación de miel en polvo o deshidratada. ....	155
6.2.3. Análisis físico-químicos de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración. ....	155
6.2.3.1. Medida de los valores de pH de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración. ....	155
6.2.3.2. Medida del color de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración. ....	155
6.2.4. Medida de la oxidación lipídica de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración. ....	156
6.2.5. Análisis microbiológico de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración. ....	156
6.2.6. Análisis de compuestos volátiles de las muestras envasadas en atmósfera modificada almacenadas en refrigeración. ....	156
6.2.7. Análisis estadístico. ....	156
6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	157
6.3.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración. ....	157
6.3.1.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el valor de pH de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración. ....	157
6.3.1.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el color de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración. ....	158
6.3.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración. ....	161
6.3.3. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la carga microbiana de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración. ....	162
6.3.4. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración. ....	164
<b>Capítulo 7: Empleo de miel artesanal y distintos tipos de envasado sobre la conservación de falda de ternera picada cruda almacenada en refrigeración .....</b>	<b>169</b>

7.1. INTRODUCCIÓN.....	171
7.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	172
7.2.1. Muestras. ....	172
7.2.2. Preparación de miel en polvo o deshidratada. ....	173
7.2.3. Análisis físico-químicos de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración. ....	173
7.2.3.1. Medida de los valores de pH de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración.....	173
7.2.3.2. Medida del color de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración.....	173
7.2.4. Medida de la oxidación lipídica de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración. ....	173
7.2.5. Análisis microbiológico de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración. ....	174
7.2.6. Análisis de compuestos volátiles de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración.....	174
7.2.7. Análisis estadístico. ....	174
7.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	175
7.3.1. Efecto del empleo de miel con distintos tipos de envasado sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada almacenada en refrigeración. ....	175
7.3.1.1. Efecto del empleo de miel con distintos tipos de envasado sobre los valores de pH de falda de ternera picada almacenada en refrigeración.....	175
7.3.1.2. Efecto del empleo de miel con distintos tipos de envasado sobre los valores de color de falda de ternera picada almacenada en refrigeración. ....	176
7.3.2. Efecto del empleo miel con distintos tipos de envasado sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada almacenada en refrigeración.....	178
7.3.3. Efecto del empleo miel con distintos tipos de envasado sobre la carga microbiana de falda de ternera picada almacenada en refrigeración.....	179
7.3.4. Efecto del empleo de miel con distintos tipos de envasado sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada almacenada en refrigeración. ...	180
<b>Capítulo 8: Empleo de miel artesanal sobre la conservación de falda de ternera picada envasada, <i>cocinada</i> y almacenada en refrigeración .....</b>	<b>185</b>
8.1. INTRODUCCIÓN.....	187
8.1.1. Cocinado.....	187
8.1.2. Características sensoriales. ....	189
8.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	190
8.2.1. Muestras. ....	190
8.2.2. Análisis físico-químicos de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas en refrigeración. ....	191



8.2.2.1. Medida de los valores de pH de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas en refrigeración.....	191
8.2.2.2. Medida del color de las muestras <i>cocinadas</i> y almacenadas en refrigeración.....	191
8.2.3. Medida de la oxidación lipídica de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas en refrigeración. ....	191
8.2.4. Análisis microbiológico de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas en refrigeración. ....	191
8.2.5. Estudio estructural de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas en refrigeración. ....	192
8.2.6. Análisis sensorial de las muestras envasadas en aire, posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas en congelación. ....	192
8.2.7. Análisis estadístico. ....	193
8.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	194
8.3.1. Efecto del empleo de la miel sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada envasada en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinada</i> y almacenada en refrigeración. ....	194
8.3.1.1. Efecto del empleo de la miel sobre el color de falda de ternera picada envasada en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinada</i> y almacenada en refrigeración. ....	195
8.3.2. Efecto del empleo de la miel sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada envasada en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinada</i> y almacenada en refrigeración. ....	197
8.3.3. Efecto del empleo de miel sobre la carga microbiana de falda de ternera picada envasada en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinada</i> y almacenada en refrigeración. ....	199
8.3.4. Estudio estructural de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente <i>cocinada</i> y almacenada en refrigeración. ....	200
8.3.5. Apreciación sensorial de las muestras envasadas en aire, posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenada en congelación. ....	204
<b>Capítulo 9: Conclusiones .....</b>	<b>209</b>
<b>Capítulo 10: Referencias bibliográficas.....</b>	<b>215</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Esquema de la metodología utilizada en la tesis. ....	4
<b>Figura 2.1.</b> Dibujo de una abeja (Fuente: de Lorenzo <i>et al.</i> , 2002). ....	8
<b>Figura 2.2. a.</b> Fotografía de una abeja libando sobre una flor de jaramago ( <i>G. Diplotaxis</i> ) (Fuente: de Lorenzo <i>et al.</i> , 2002). <b>b.</b> Fotografía de una rama de <i>Quercus pyrenaica</i> subespecie Willd. Somosierra, Junio 2001 (Fuente: de Lorenzo <i>et al.</i> , 2002). ....	10
<b>Figura 2.3.</b> Fotografía de mieles artesanales con distintas tonalidades (Fuente: de Lorenzo <i>et al.</i> , 2002).12	
<b>Figura 2.4.</b> Fotografía de un tarro con miel cristalizada (Fuente: Dra. Cristina de Lorenzo). ....	26
<b>Figura 2.5.</b> Fotografía de falda de ternera picada cruda (Fuente: Dra. Cristina de Lorenzo). ....	27
<b>Figura 2.6.</b> Esquema de las etapas de la oxidación lipídica (Fuente: Fernández <i>et al.</i> , 1997). ....	34
<b>Figura 2.7.</b> Fotografías de algunos métodos de conservación <b>a.</b> físicos como la congelación (Fuente: <a href="http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2008/03/27/175691.php">http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2008/03/27/175691.php</a> ) y químicos, como el <b>b.</b> curado (Fuente: <a href="http://revista.consumer.es/web/es/20010101/actualidad/ analisis1/">http://revista.consumer.es/web/es/20010101/actualidad/ analisis1/</a> ) y <b>c.</b> el salazón (Fuente: <a href="http://revista.consumer.es/web/es/20010501/alimentacion/">http://revista.consumer.es/web/es/20010501/alimentacion/</a> ). ....	45
<b>Figura 2.8.</b> Dibujo de la estructura química de butilhidroxitolueno (BHT) (Fuente: Jiangning <i>et al.</i> , 2005). ....	50
<b>Figura 2.9.</b> Fotografía de la planta de romero. (Fuente: <a href="http://herbarivirtual.uib.es/cas-ub/especie/4485.html">http://herbarivirtual.uib.es/cas-ub/especie/4485.html</a> ). ....	53
<b>Figura 2.10. a.</b> Esquema de la formación de un lípido hidroperóxido y un radical tocoferoxil mediante la donación de un átomo de hidrógeno de $\alpha$ -tocoferol de la vitamina E al radical lipídico. <b>b.</b> El estado original de $\alpha$ -tocoferol puede ser regenerado mediante una reacción de reducción con grupos hidroxilo de otros antioxidantes como vitamina C (ascorbato) o ubiquinol (Fuente: Tucker y Townsend, 2005). ....	54
<b>Figura 2.11.</b> Fotografía de tarros con miel (Fuente: Dra. Cristina de Lorenzo). ....	56
<b>Figura 2.12.</b> Fotografía de alimentos envasados en bandeja (Fuente: <a href="http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2009/04/30/185014.php">http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2009/04/30/185014.php</a> ). ....	59
<b>Figura 2.13.</b> Fotografías de algunos platos preparados (Fuente: <a href="http://www.maheso.com/">http://www.maheso.com/</a> , 03/04/2013). 61	
<b>Figura 2.14.</b> Esquema de los procesos de <b>a.</b> extracción y <b>b.</b> desorción en la técnica de Microextracción en Fase Sólida (Solid Phase Microextraction, SPME) (Fuente: <a href="http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/General_Information/manual_resoluci.pdf">http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/General_Information/manual_resoluci.pdf</a> ). ....	66
<b>Figura 2.15.</b> Micrografía de la microestructura de falda de ternera picada mediante microscopía electrónica de barrido con un aumento de x500 (Fuente: Dra. Cristina de Lorenzo, 2012). ....	68
<b>Figura 2.16.</b> Fotografía de la escala artificial para la evaluación de color de la miel (Fuente: de Lorenzo <i>et al.</i> , 2002). ....	70
<b>Figura 3.1.</b> Esquema de la metodología utilizada en este capítulo. ....	87
<b>Figura 3.2.</b> Valores de pH de las mieles artesanales (M12, M37, M39, M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). ....	88
<b>Figura 3.3.</b> Contenido en humedad (%) de las mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). ....	89
<b>Figura 3.4.</b> Conductividad eléctrica ( $S \cdot cm^{-1} \cdot 10^{-4}$ ) de las mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). ....	90
<b>Figura 3.5.</b> Contenido en cenizas (%) de mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). ....	90
<b>Figura 3.6.</b> Contenido en polifenoles (mg/gmiel) de mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). ....	91

<b>Figura 3.7.</b> Absorbancia neta ( $A_{560nm}-A_{720nm}$ ) de mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p<0,05$ ). .....	92
<b>Figura 3.8.</b> Captura del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•) (%) de mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). .....	94
<b>Figura 4.1.</b> Esquema de la metodología utilizada en este capítulo. ....	108
<b>Figura 4.2.</b> Efecto del empleo de un 19% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45) y mieles florales (M37 y MR), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de pH de falda de ternera picada envasada en aire (control) y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3 y (■) 6 días de almacenamiento. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p<0,05$ ). .....	110
<b>Figura 4.3.</b> Efecto del empleo de un 19% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45) y mieles florales (M37 y MR), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada envasada en aire (Control) y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3 y (■) 6 días de almacenamiento. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p<0,05$ ). .....	115
<b>Figura 4.4.</b> Efecto del empleo de un 19% (p/p) de miel de mielato (M12) y miel floral (MR), en forma líquida (símbolo cerrado) o deshidratada (símbolo abierto), sobre los recuentos de (A) microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y (B) bacterias ácido lácticas (BAL) de falda de ternera picada (x) envasada en aire y almacenada a 4 °C durante 6 días. ▲ M12 y ♦ MR. ....	117
<b>Figura 4.5.</b> Perfil volátil de falda de ternera picada (A) con un 19% (p/p) de miel de mielato (M12) (B) en forma líquida (C) o deshidratada y (D) miel floral (MR) en forma líquida, envasadas en aire y almacenadas a 4 °C durante (■) 0, (■) 3 y (■) 6 días. tr, min: 1,35 (acetona), 2,50 (2,3-butanodiona), 4,26 (hexanal), 8,32 (3-metil-1-butanol), 9,68 (1-pentanol), 10,60 (3-hidroxi-2-butanona), 12,74 (1-hexanol), 15,46 (ácido acético), 17,09 (benzaldehído). .....	121
<b>Figura 4.6.</b> Micrografías de la microestructura de falda de ternera picada envasada en aire a 4 °C a 0 (A, B, C, D) y 21 días (E y F) de almacenamiento. ....	126
<b>Figura 4.7.</b> Micrografías de la microestructura de falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida (A y B) y en forma deshidratada (C) envasada en aire a 0 días de almacenamiento a 4 °C. ....	128
<b>Figura 5.1.</b> Esquema de metodología utilizada en este capítulo. ....	135
<b>Figura 5.2.</b> Efecto del empleo de distintos porcentajes (5, 10 y 15%, p/p) de mieles de mielato (A) M12 y (B) M45, en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de pH de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p<0,05$ ). .....	137
<b>Figura 5.3.</b> Efecto del empleo de distintos porcentajes (5, 10 y 15%, p/p) de mieles de mielato (A) M12 (■) y (B) M45 (●), en forma líquida (símbolo cerrado) o deshidratada (símbolo abierto), sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada (control) (▲) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante 21 días. 5 (.), 10 (--) y 15% (—). ....	141
<b>Figura 5.4.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) (—), en forma líquida (●) o deshidratada (○), sobre los recuentos de (A) microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y (B) bacterias ácido lácticas (BAL) de falda de ternera picada (control) (▲) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante 21 días. ....	143
<b>Figura 5.5.</b> Compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. tr, min: 1,34 (acetona), 1,75 (2-butanona), 1,97 (etanol), 2,45 (2,3-butanodiona), 4,22 (hexanal), 9,68 (1-pentanol), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona), 15,43 (ácido acético). ....	147
<b>Figura 5.6.</b> Compuestos volátiles de falda de ternera picada con miel de mielato (M12) añadida al (A) 5% (p/p), (B) 10% (p/p) y (C) 15% (p/p) en forma deshidratada, envasadas a vacío y almacenadas a 4 °C durante (■) 0, (■) 7 y (■) 14 días. tr, min: 1,34 (acetona), 1,75 (2-butanona), 1,97 (etanol), 2,45 (2,3-butanodiona), 4,22 (hexanal), 9,68 (1-pentanol), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona), 15,43 (ácido acético)...	148

<b>Figura 5.7.</b> Perfil volátil de falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida (A) y deshidratada (B) envasadas a vacío y almacenadas a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. tr, min: 1,34 (acetona), 1,75 (2-butanona), 1,97 (etanol), 2,45 (2,3-butanodiona), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona).....	148
<b>Figura 6.1.</b> Esquema de la metodología utilizada en este capítulo. ....	157
<b>Figura 6.2.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de pH de falda de ternera picada (Control) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05). ....	158
<b>Figura 6.3.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada (Control) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05). ....	162
<b>Figura 6.4.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida (●) o deshidratada (○), sobre los recuentos de (A) microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y (B) bacterias ácido lácticas (BAL) de falda de ternera picada (control) (♦) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante 21 días. ....	164
<b>Figura 6.5.</b> Compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. tr (min): 1,34 (acetona), 2,45 (2,3-butanodiona), 4,25 (hexanal), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona), 12,69 (hexanol), 15,43 (ácido acético), 17,07 (benzaldehído), 24,45 (ácido hexanóico).....	167
<b>Figura 6.6.</b> Compuestos volátiles de falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) (A) en forma líquida y (B) en forma deshidratada, envasadas en atmósfera modificada y almacenadas a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. tr (min): 1,34 (acetona), 2,45 (2,3-butanodiona), 4,25 (hexanal), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona), 12,69 (hexanol), 15,43 (ácido acético), 17,07 (benzaldehído), 24,45 (ácido hexanóico). ....	167
<b>Figura 7.1.</b> Esquema de la metodología utilizada en este capítulo. ....	175
<b>Figura 7.2.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP), sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3 y (■) 7 días de almacenamiento. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05).....	179
<b>Figura 8.1.</b> Esquema de la metodología utilizada en este capítulo. ....	193
<b>Figura 8.2.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida (—) sobre los valores de pH de falda de ternera picada (control) (—) envasada en aire (■), a vacío (▲) o en atmósfera modificada (♦) y posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas a 4 °C durante 21 días. ....	195
<b>Figura 8.3.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida (—) sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada (control) (—) envasada en aire (■), a vacío (▲) y en atmósfera modificada (♦), posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas a 4 °C durante 21 días.....	199
<b>Figura 8.4.</b> Micrografías de la microestructura de carne picada (control) envasada en aire y posteriormente cocinada y almacenada a 4 °C a 0 (A y B) y a 21 días (C). ....	202
<b>Figura 8.5.</b> Micrografías de la microestructura de carne picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida A. envasada en aire, B. a vacío y C. en atmósfera modificada y posteriormente cocinadas y almacenadas a 4 °C durante 21 días. ....	204
<b>Figura 8.6.</b> Aroma en falda de ternera picada envasada en aire y <i>cocinada</i> , A, y en falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida envasada en aire, B. ....	206
<b>Figura 8.7.</b> Detección de sabor dulce en A. falda de ternera picada envasada en aire y <i>cocinada</i> , y B. con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida. ■ SÍ, □ NO. ....	206

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2.1.</b> Parámetros físico-químicos de calidad de las mieles (Fuente: BOE, nº 186, 2003). .....	11
<b>Tabla 2.2.</b> Composición media de la miel en g del componente/100 g miel (Fuente: Álvarez-Suárez <i>et al.</i> , 2010b; Bogdanov <i>et al.</i> , 2008; Chow, 2002; Pérez, 2002; Terrab <i>et al.</i> , 2003). .....	15
<b>Tabla 2.3.</b> Norma microbiológica aplicable a la miel (Fuente: BOE nº 193, 16/8/83). .....	19
<b>Tabla 2.4.</b> Criterios microbiológicos aplicables a la miel (Fuente: DOUE 22/12/2005, L338/1-26). .....	20
<b>Tabla 2.5.</b> Composición de las piezas típicas de vacuno (Fuente: Ranken, 2003). .....	28
<b>Tabla 2.6.</b> Criterios microbiológicos aplicables a carne picada (Fuente: DOUE 22/12/2005, L338/1-26). .....	30
<b>Tabla 2.7.</b> Alteraciones microbianas de la carne durante su maduración (Fuente: Pascual y Calderón, 2000). .....	39
<b>Tabla 2.8.</b> Normas microbiológicas de comidas preparadas con tratamiento térmico (BOE nº 11, 12/01/2001). .....	63
<b>Tabla 2.9.</b> Normas microbiológicas de alimentos listos para su consumo (DOUE 22/12/2005, L-338/1-26). .....	64
<b>Tabla 2.10.</b> Fibras más utilizadas comúnmente (Fuente: Balasubramanian y Panigrahi, 2011). .....	67
<b>Tabla 3.1.</b> Recta de calibrado. ....	85
<b>Tabla 3.2.</b> Distintas disoluciones de miel en pocillos. ....	86
<b>Tabla 3.3.</b> Valores de la acidez libre y total (meq/kg) de las mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). .....	88
<b>Tabla 3.4.</b> Porcentaje (%) de disminución de absorbancia del cultivo de <i>Staphylococcus aureus</i> en presencia de distintas concentraciones (16, 19, 23 y 25%) de miel artificial (MA), mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR) a las 4 y 24 h de incubación a 37 °C. ....	96
<b>Tabla 4.1.</b> Efecto del empleo de un 19% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45) y mieles florales (M37 y MR), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de actividad de agua (aw) de falda de ternera picada (Control) envasada en aire y almacenada a 4 °C durante 6 días. ....	111
<b>Tabla 4.2.</b> Efecto del empleo de un 19% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45) y mieles florales (M37 y MR), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de color, L* (luminosidad), a* (rojo), b* (amarillo), Chroma o C* (saturación) y Hue o H* (tono) de falda de ternera picada (Control) envasada en aire y almacenada a 4 °C durante 6 días. ....	113
<b>Tabla 4.3.</b> Efecto del empleo de un 19% (p/p) de miel de mielato (M12), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)] y miel floral (MR) en forma (L), sobre el perfil volátil de falda de ternera picada (Control) envasada en aire y almacenada a 4 °C durante 6 días. ....	122
<b>Tabla 5.1.</b> Efecto del empleo de un 5, 10 y 15% (p/p) de miel de mielato (M12) en forma deshidratada [(D)] sobre los valores de color L* (luminosidad) a*(rojo), b* (amarillo), Chroma o C* (intensidad) y Hue o H*(tono) de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante 14 días. ....	139
<b>Tabla 5.2.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de color, L*(luminosidad), a* (rojo), b* (amarillo), Chroma o C*(intensidad) y Hue o H*(tono) de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante 21 días. ....	140
<b>Tabla 5.3. a.</b> Efecto del empleo de un 5, 10 o 15% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre el perfil volátil de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada 4 °C durante 14 o 21 días. ....	149

<b>Tabla 5.3. b.</b> Efecto del empleo de un 5, 10 o 15% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre el perfil volátil de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada 4 °C durante 14 o 21 días. ....	150
<b>Tabla 6.1.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de color L* (luminosidad), a* (rojo), b* (amarillo), Chroma o C* (saturación) y Hue o H*(tono) de falda de ternera picada (Control) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante 21 días. ....	160
<b>Tabla 6.2.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada (Control) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante 21 días. ....	168
<b>Tabla 7.1.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP) sobre los valores de pH de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante 7 días. ....	176
<b>Tabla 7.2.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP), sobre los valores a* (rojo), Chroma o C* (saturación) y Hue o H* (tono) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante 7 días. ....	178
<b>Tabla 7.3.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP) sobre los recuentos (log ufc/ g muestra) de microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y bacterias ácido lácticas (BAL) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante 7 días. ....	180
<b>Tabla 7.4.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP) sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante 7 días. ....	183
<b>Tabla 8.1.</b> Escala de 9 puntos de cada uno de los atributos sensoriales evaluados. ....	192
<b>Tabla 8.2.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)], sobre los valores de color L* (luminosidad), a* (rojo), b* (amarillo), Chroma o C* (saturación) y Hue o H* (tono) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A), a vacío (V) y en atmósfera modificada (MAP), posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas a 4 °C durante 21 días. ....	197
<b>Tabla 8.3.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida [(L)], sobre los recuentos (log ufc/g muestra) de microorganismos aerobios mesófilos totales (AM), bacterias ácido lácticas (BAL), enterobacterias (ENT) y hongos filamentosos y levaduras (HyL) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A), a vacío (V) y en atmósfera modificada (MAP) y posteriormente <i>cocinadas</i> y almacenadas a 4 °C durante 21 días. ....	200
<b>Tabla 8.4.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)], sobre los parámetros sensoriales de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A), posteriormente <i>cocinada</i> , congelada (-35 °C) y recalentada. ....	207
<b>Tabla 8.5.</b> Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida (L) sobre la detección de sabores básicos (dulce, salado, amargo y ácido) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y posteriormente <i>cocinada</i> , congelada (-35 °C) y recalentada. ....	207

# **Capítulo 1: Justificación**





## 1.1. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA.

La miel es un producto natural y con un sabor dulce que se ha consumido a lo largo de la historia por su alto valor nutritivo y su contribución a la salud humana (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010a). El dulzor, las ventajas funcionales y el atractivo natural, son algunas de las razones por las que la miel es un ingrediente alimenticio muy valorado (Dawson y Mathew, 2000). Las mieles contienen una amplia variedad de sustancias conservantes tales como  $\alpha$ -tocoferol, ácido ascórbico, flavonoides y otros fenólicos, así como productos de la reacción de Maillard y enzimas tales como glucosa oxidasa, catalasa y peroxidasa (Crane, 1975; Ferreres *et al.*, 1993; Ioyrish, 1974; Johnston *et al.*, 2005). Muchas de estas sustancias tienen propiedades antioxidantes (McKibben y Engeseth, 2002). La acción conjunta de dichas sustancias proporciona un efecto antioxidante sinérgico (Johnston *et al.*, 2005).

La carne es la parte muscular comestible de los animales de abasto, sacrificados y faenados en condiciones higiénicas (Pascual y Calderón, 2000). El término “carne fresca” incluye carne de animales procesados recientemente tanto como carne envasada a vacío o carne envasada en atmósferas modificadas de gases, que no han tenido otro tratamiento que el enfriado para asegurar su conservación (Zhou *et al.*, 2010). Se

entiende por carne picada el producto constituido por carne magra de vacuno o de ovino o de porcino, debidamente picada, que no ha sufrido ni la acción del calor, ni la maduración, ni la maceración (BOE nº 18, 1986).

La alteración de los alimentos es la modificación de los caracteres organolépticos, de la composición química o del valor nutritivo de un alimento por causas no provocadas deliberadamente, de tal forma que la aptitud para el consumo queda anulada o disminuida, aunque permanezca inocuo. Es fundamental conocer las características típicas de todos los alimentos para conocer cuándo comienza la aparición de los cambios deletéreos en el color, olor, sabor, aroma y consistencia (Hernández y Sastre, 1999). El color, el contenido microbiano y la oxidación lipídica son factores importantes para la vida útil y la aceptación del consumidor de la carne fresca (Jakobsen y Bertelsen, 2000). Estos factores son los criterios de calidad más importantes para el almacenamiento de carne roja fresca (Esmer *et al.*, 2011).

Los procesos de conservación de alimentos, aplicados hoy día en el ámbito de la industria alimentaria, tienen como objetivo principal evitar el deterioro de la calidad de los alimentos elaborados durante sus necesarios períodos de almacenamiento (Bello, 2000). Los procesos utilizados en la conservación de la carne son principalmente la inhibición de los microorganismos responsables del deterioro, aunque otros métodos están enfocados en minimizar otros cambios de deterioro tales como el color y los cambios oxidativos (Zhou *et al.*, 2010).

La carne es un producto muy perecedero debido a sus componentes biológicos (Zhou *et al.*, 2010). Dentro de las distintas formas de comercialización de la carne, la picada es la que está expuesta a una alteración más posible, debido a su amplia superficie de contaminación, al estar finamente triturada y a su mayor manipulación (Pascual y Calderón, 2000).

Se han propuesto distintas metodologías para mejorar la estabilidad lipídica y del color de la carne (McMillin, 2008). Por ejemplo, se ha incrementado la estabilidad oxidativa mediante la adición de  $\alpha$ -tocoferol o vitamina E como suplemento en las dietas de los animales o la adición directa de antioxidantes a la carne (Faustman *et al.*, 1996; McMillin, 2008). El uso de antioxidantes está permitido para prevenir la aparición de alteraciones en muchos productos cárnicos (Fernández *et al.*, 1997).

Debido a los efectos negativos de los aditivos sintéticos sobre la salud humana (Lachman *et al.*, 2010) además de la preocupación del consumidor por su salud y los ingredientes añadidos en sus alimentos (Johnston *et al.*, 2005), hay una demanda creciente de productos naturales en la dieta humana (Lachman *et al.*, 2010), entre ellos los antioxidantes naturales (Johnston *et al.*, 2005).

La miel, ha demostrado tener capacidad de conservación para los alimentos, lo que incluye tanto la minimización de reacciones de deterioro oxidativo en los mismos (Antony *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2000) como la protección contra el crecimiento microbiano (Willix *et al.*, 1992).

## 1.2. OBJETIVOS.

Los propósitos del presente documento se organizaron en un objetivo principal que a su vez se dividió en distintos objetivos parciales.

El principal objetivo de la presente Tesis Doctoral es la utilización de miel española artesanal como conservante en carne picada, ya que este es un modelo de alimento de una susceptibilidad muy alta a las alteraciones oxidativas y microbianas por sus características (su pH, su actividad del agua...) y por su elevada superficie de exposición.

Los objetivos parciales son los siguientes:

- Determinación de los parámetros físico-químicos y las propiedades biológicas de diferentes mieles (Figura 1.1).
- Conocer el efecto de la utilización de la miel española artesanal sobre la conservación de carne picada almacenada en refrigeración, combinándolo con diferentes sistemas de envasado: (i) al aire, (ii) en vacío y (iii) en atmósfera modificada (Figura 1.1).
- Conocer el efecto de la utilización de la miel española artesanal sobre la conservación de carne picada **cocinada** almacenada en refrigeración, combinándolo con diferentes sistemas de envasado: (i) al aire, (ii) a vacío y (iii) en atmósfera modificada. Determinar la aceptación sensorial del producto por parte del consumidor (Figura 1.1).

### 1.3. ESTRUCTURA DEL DOCUMENTO.

La presente Tesis Doctoral consta de una primera parte de información general respecto el tema a tratar, denominada antecedentes (capítulo 2).

En los siguientes capítulos se describe el tema objeto de estudio de forma específica y concreta mediante los apartados Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión (capítulos 3, 4, 5, 6, 7 y 8) (Figura 1.1).

Por último, se incluye un capítulo con conclusiones del tema (capítulo 9) y un capítulo con las referencias bibliográficas utilizadas para realizar el trabajo (capítulo 10).

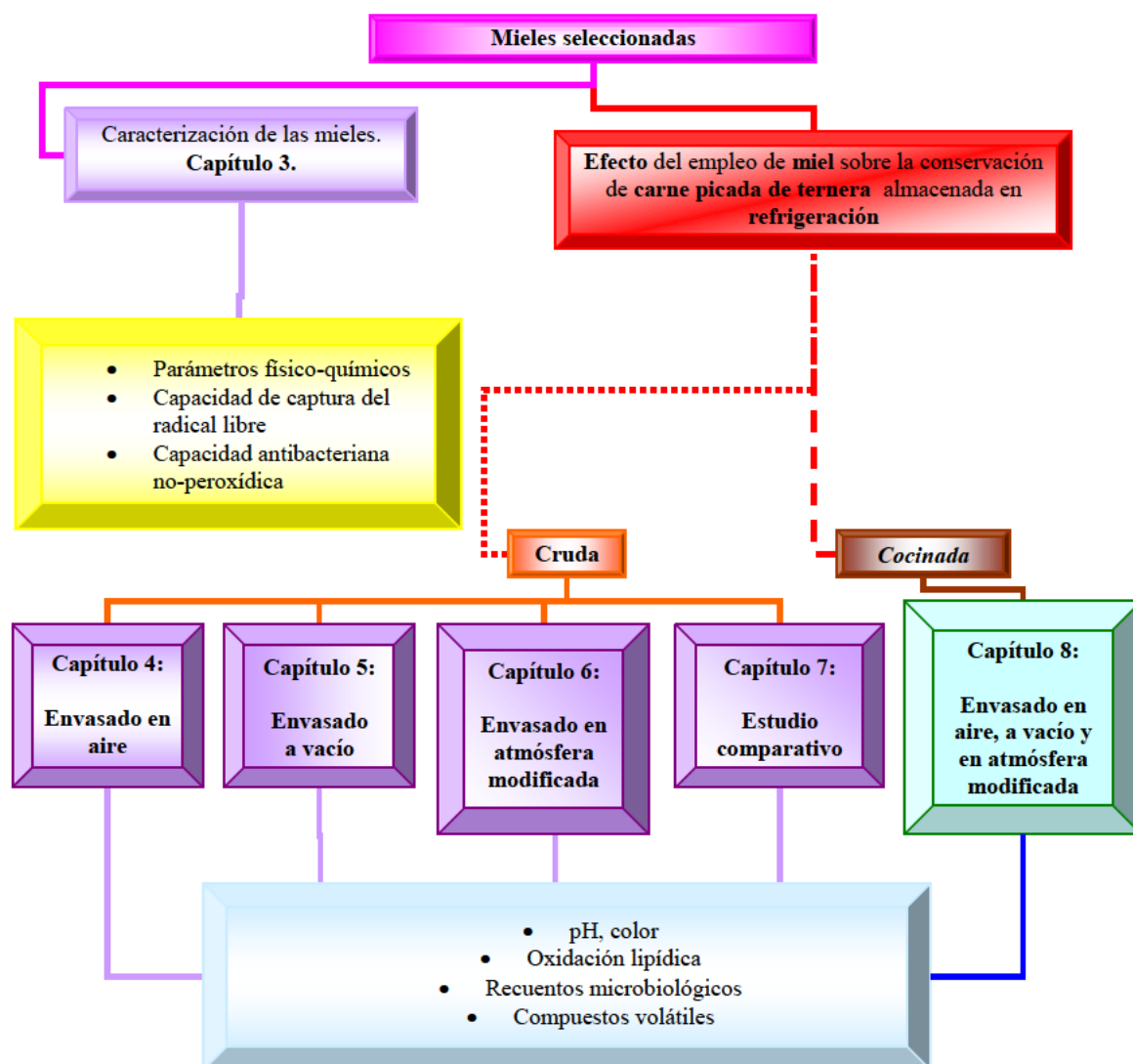


Figura 1.1. Esquema de la metodología utilizada en la tesis.

## **Capítulo 2: Antecedentes**



## 2.1. MIEL.

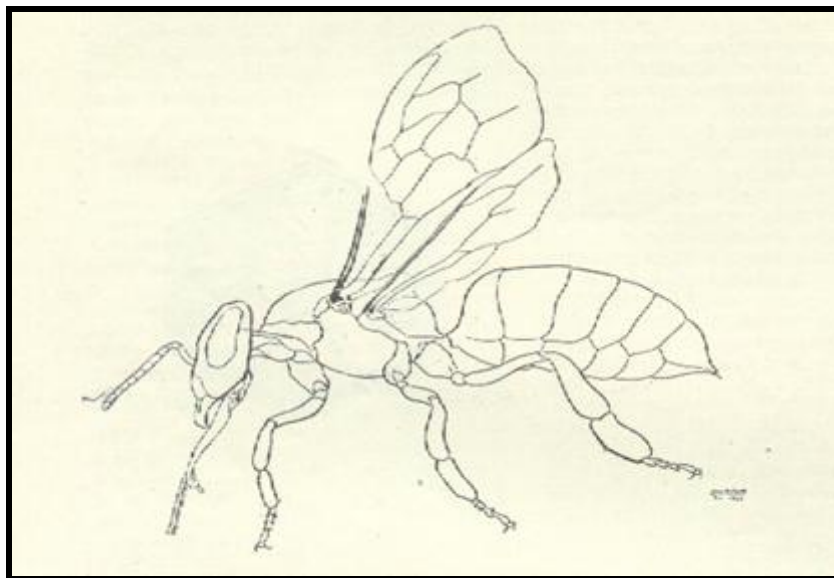
### 2.1.1. Historia.

La **miel** ha sido uno de los mejores nutrientes que la sabia naturaleza ha proporcionado (Fernández, 2011). Durante milenios y hasta el surgimiento de la producción de azúcar en el siglo XV, ha cumplido un papel como endulzante natural, alimento e ingrediente empleado en productos cosméticos y medicinales (Pardo, 2005).

Las primeras referencias históricas de la miel se encuentran en pinturas prehistóricas localizadas en España occidental con una antigüedad de 7000 años antes de Cristo (a. C.), donde se observa al hombre primitivo rodeado de abejas y extrayendo miel de un panal (Ara, 2004; Pardo, 2005). También se han encontrado jeroglíficos egipcios que documentan el aprovechamiento de las abejas por parte de esa cultura milenaria. En las tumbas de Luxor, fechadas entre los años 3550 a. C. y 1450 a. C., se muestra la extracción de la miel mediante la utilización de humo (Pardo, 2005).

En el **Antiguo Egipto**, debido a las propiedades y cualidades de la miel como conservante, se la consideró un elixir poderoso y las abejas (Figura 2.1) fueron mantenidas en los templos egipcios para alimentar a los animales sagrados, hacer

ofrendas a los dioses y para la producción de medicamentos y ungüentos (Fernández, 2011). Según describe el documento más antiguo de la medicina egipcia, el papiro de Ebers (1500 a. C.), la miel se utilizó para curar heridas, enfermedades gástricas, intestinales, renales, de los ojos, etc (Fernández, 2011).



**Figura 2.1.** Dibujo de una abeja (Fuente: de Lorenzo *et al.*, 2002).

Muchas de estas prescripciones fueron conocidas por los griegos que las llevaron a Europa y algunas se encuentran vigentes hoy. En la **antigua Grecia**, la miel se utilizaba sola o mezclada con otras sustancias medicinales, sirviendo para curar heridas, envenenamientos o afecciones del pecho, la nariz, los ojos y las orejas (Fernández, 2011). Además, era un alimento muy apreciado por los atletas olímpicos griegos, que la consideraban un alimento de los dioses y una fuente de energía (Ara, 2004), pues Zeus fue alimentado con miel (Ara, 2004; Fernández, 2011).

Otro pueblo de la Antigüedad amante de la miel fue el **pueblo romano** (Ara, 2004). Durante su imperio, la mayor cantidad provenía de la provincia de Hispania y su consumo estaba extendido a los patricios, senadores, pueblo, soldados y gladiadores, a quienes este producto les otorgaba fuerza y energía. Incluso se comercializaba de manera conjunta con el vino de miel, debido al alto valor que alcanzaba en las transacciones (Pardo, 2005). Además, se utilizaba para conservar las frutas durante el invierno y para fabricar bebidas como la hidromiel. Los perfumistas de Roma la empleaban para hacer aceites aromáticos de tocador y en farmacia se aplicaba para combatir afecciones en los ojos, garganta, nariz, oído y pecho (Pardo, 2005). En forma



pura o mezclada con otras sustancias se utilizaba para curar heridas, quemaduras y mordeduras de animales (Pardo, 2005).

Entre los **árabes** se ha preservado también su utilización (Ara, 2004). En el mundo árabe, la miel era considerada un alimento afrodisíaco de gran importancia, junto con las especias, las frutas secas y los huevos (Pardo, 2005).

También en los **pueblos orientales** encontramos un uso gastronómico de la miel muy extendido. La cocina china, que tiene más de cinco mil años de antigüedad, cuenta con varios platos tradicionales que se benefician de su sabor exquisito además de su consistencia (Pardo, 2005).

Las **primeras civilizaciones americanas** utilizaban meliponas (abejas sin aguijón) debido a que la abeja *Apis mellifera* no es autóctona del continente americano. Los mayas utilizaban la miel para preparar el balche (una bebida elaborada sobre la base de miel, corteza de bacheé y agua) que se usaba en las ceremonias y en los rituales religiosos de iniciación (Pardo, 2005). Se cree también, que la miel y la cera eran utilizadas como productos de intercambio para obtener semillas de cacao y piedras preciosas. La conquista de América marcó el ingreso de la abeja melífera con aguijón en el nuevo continente (Pardo, 2005).

La miel, además de su aprovechamiento como fuente de energía y agente terapéutico, se utilizó hasta el siglo XIV en la preparación de bebidas alcohólicas como el aguamiel (o hidromiel), una bebida muy popular hasta que se elaboraron la cerveza o el vino (Ara, 2004). La validez de las aplicaciones de la miel en el campo de la medicina expresadas por los clásicos, no se cuestionó hasta los descubrimientos del siglo XIX (Fernández, 2011).

**Actualmente**, la miel es muy apreciada por ser un producto energético, sabroso, sano, natural, listo para consumir y sin conservantes (Mendizábal, 2005).

### **2.1.2. Definición. Parámetros de calidad.**

La **miel** es la sustancia natural dulce producida por la abeja *Apis mellifera* a partir del néctar de plantas o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores presentes en las partes vivas de plantas, que las abejas recolectan,

transforman combinándolas con sustancias específicas propias, depositan, deshidratan, almacenan y dejan en colmenas para que madure (BOE nº 186, 2003).

Según su **origen**, la miel se clasifica en **miel de flores** o de néctar cuando procede del néctar de las plantas (Figura 2.2.a), o en **miel de mielada** cuando la miel procede en su mayor parte de excreciones de insectos chupadores de plantas (hemípteros) presentes en las partes vivas de las plantas o de secreciones de las partes vivas de las plantas (Figura 2.2.b) (BOE nº 186, 2003).



**Figura 2.2. a.** Fotografía de una abeja libando sobre una flor de jaramago (*G. Diplotaxis*) (Fuente: de Lorenzo *et al.*, 2002). **b.** Fotografía de una rama de *Quercus pyrenaica* subespecie Willd. Somosierra, Junio 2001 (Fuente: de Lorenzo *et al.*, 2002).

La norma de calidad relativa a la miel tiene por objeto definir lo que se entiende por miel y fijar las condiciones y características que debe cumplir dicho producto para su presentación, comercialización y consumo en el mercado interior (BOE nº 186, 2003). En el momento de su comercialización como tal o de su utilización en cualquier

producto destinado al consumo humano, la miel debe responder a los parámetros físico-químicos (BOE nº 186, 2003) descritos en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1.** Parámetros físico-químicos de calidad de las mieles (Fuente: BOE, nº 186, 2003).

<b>Contenido de azúcares</b>	Contenido de fructosa y glucosa (suma de ambas)	Miel de flores	No menos de 60 g/100g
		Miel de mielada, mezclas de miel de mielada con miel de flores	No menos de 45g/100g
		En general	No más de 5 g/100g
	Contenido de sacarosa	Falsa acacia <i>Robinia pseudo acacia</i> , alfalfa <i>Medicago sativa</i> , Banksia de Menzies <i>Banksia menziesii</i> , Sulla <i>Hedysarum</i> , Eucalipto rojo <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , <i>Eucryphia lucida</i> , <i>Eucryphia milliganii</i> , <i>Citrus</i> spp	No más de 10 g/100 g
		Espliego <i>Lavandula</i> spp, Borraja <i>Borago officinalis</i>	No más de 15 g/100 g
<b>Contenido de agua</b>		En general	No más del 20%
		Miel de brezo <i>Calluna</i> y miel para uso industrial en general	No más del 23%
		Miel de brezo <i>Calluna vulgaris</i> para uso industrial	No más del 25%
<b>Contenido de sólidos insolubles en agua</b>		En general	No más de 0,1 g/100 g
		Miel prensada	No más de 0,5 g/100 g
<b>Conductividad eléctrica</b>		Miel no incluida en los casos de abajo y mezclas de estas mieles	No más de 0,8 mS/cm
		Miel de mielada y miel de castaño y mezclas de éstas, excepto con las mieles que se enumeran a continuación	
		Excepciones: madroño <i>Arbuxtus unedo</i> , argaña <i>Erica</i> , eucalipto, tilo <i>Tilia</i> spp, brezo <i>Calluna vulgaris</i> , manuka o jelly bush <i>Leptospermum</i> , árbol del té <i>Melaleuca</i> spp.	No menos de 0,8 mS/cm
<b>Ácidos libres</b>		En general	No más de 50 meq de ácidos por 1000 g
		Miel para uso industrial	No más de 80 meq de ácidos por 1000 g
<b>Índice diastásico y contenido en hidroximetilfurfural (HMF), determinados después de la elaboración y mezcla</b>	Índice diastásico (escala de Schade)	En general, excepto miel para uso industrial	No menos de 8
		Mieles con un bajo contenido natural de enzimas (por ejemplo, mieles de cítricos) y un contenido de HMF no superior a 15 mg/kg	No menos de 3
	HMF	En general, excepto miel para uso industrial	No más de 40 mg/kg (condicionado a lo dispuesto en el segundo apartado del índice diastásico)
		Miel de origen declarado procedente de regiones de clima tropical y mezclas de estas mieles	No más de 80 mg/kg

El **color** de la miel puede variar desde un tono casi incoloro a un tono pardo oscuro (BOE n° 186, 2003). Su aspecto puede variar mucho de unas mieles a otras en función de su origen (de Lorenzo *et al.*, 2002) (Figura 2.3).



**Figura 2.3.** Fotografía de mieles artesanales con distintas tonalidades (Fuente: de Lorenzo *et al.*, 2002).

El color está ligado a una serie de factores (de Lorenzo *et al.*, 2002):

- El origen floral y la composición físico-química del producto. Las mieles oscuras poseen una acidez y un contenido mineral mayores y son más ricas en dextrinas, mientras que las de color claro contienen más glucosa y fructosa.
- Características climatológicas y ambientales. Las mieles recogidas en la primavera temprana y en ambientes húmedos tienen un color mucho más claro que las mieles de final de temporada.
- Presencia de compuestos pigmentarios: carotenos, xantofilas, elementos minerales y polifenoles. Estos últimos se subdividen en tres familias: ácidos benzóicos, ácidos cinámicos y flavonoides.
- Maduración, presencia de impurezas y calentamiento inadecuado. La maduración lleva implícita cambios en el contenido de la humedad y en la concentración de los azúcares mayoritarios, mientras que la existencia, bien de partículas ajenas al producto (polvo, restos orgánicos) o incluso la de los granos

de polen, favorecen el proceso de cristalización, resultando fácilmente apreciable las diferencias de tonalidad entre mieles similares al pasar del estado líquido o semi-líquido al pastoso u opaco (Gonnet *et al.*, 1990). El calentamiento y el envejecimiento de la miel ocasionan un oscurecimiento de la misma (Cheftel *et al.*, 1983; Mendizábal, 2005).

A pesar de la importancia de este parámetro, nuestra legislación no señala ningún método oficial para su caracterización (de Lorenzo *et al.*, 2002).

El **contenido en agua** de la miel está directamente relacionado entre otros factores, con el origen floral, la localización geográfica, las condiciones climatológicas (temperatura, humedad ambiental) y edáficas (tipo de suelo), la estación del año y la humedad original del néctar (de Lorenzo *et al.*, 2002). Por otro lado, es un factor clave relacionado con el deterioro de la miel por el proceso de la fermentación (Chirife *et al.*, 2006; Zamora y Chirife, 2006). Además, el contenido en agua afecta a las propiedades organolépticas (color, sabor, palatabilidad), al peso específico y a la solubilidad de la miel y en consecuencia, a su valor económico en el mercado (de Lorenzo *et al.*, 2002).

La miel presenta una **reacción ácida** característica por su contenido en ácidos orgánicos y en sales minerales, en especial potasio, sodio y calcio (de Lorenzo *et al.*, 2002). La medida de pH nos permite conocer la denominada “acidez actual” de la miel, que junto con el contenido en azúcares, nos proporciona una medida de su susceptibilidad a los ataques microbiológicos. Su caracterización, por tanto, resulta de máximo interés durante los procesos de extracción y de almacenamiento, no sólo por su influencia sobre el desarrollo microbiano y el contenido enzimático, sino por su capacidad para alterar las propiedades físicas y reológicas de la miel, su textura, la viscosidad o su resistencia a las agresiones externas (de Lorenzo *et al.*, 2002). El valor de pH de una miel en disolución se sitúa normalmente entre 3,5 y 4,5 (Jeáune, 1993; Louveaux, 1985), con valores inferiores a 4,0 para mieles de néctar y superiores a esta cifra para mieles de mielato (de Lorenzo *et al.*, 2002). Una miel con un valor de pH bajo (3,4-3,6) se degrada más fácilmente que una miel con un valor de pH cercano a 5,0 (de Lorenzo *et al.*, 2002; Mendizábal, 2005). En condiciones ideales de almacenamiento (temperatura óptima y ausencia de luz), el pH se comporta como un parámetro muy estable, apreciándose una muy ligera tendencia al descenso con el tiempo. La

composición cuali- y cuantitativa de la fracción ácida es muy variada y va unida al doble origen animal-vegetal del producto (de Lorenzo *et al.*, 2002).

La miel contiene numerosos ácidos orgánicos, como los ácidos acético, cítrico, láctico, oxálico, málico, succínico, fórmico y butírico (de Lorenzo *et al.*, 2002; Gil y Ruiz, 2010). De ellos, el ácido glucónico es el más abundante (de Lorenzo *et al.*, 2002; Gil y Ruiz, 2010; Mendizábal, 2005) y se origina a partir de la glucosa, por acción de la enzima glucosa-oxidasa (E.C. 1.1.3.4) (de Lorenzo *et al.*, 2002).

En la miel pueden distinguirse tres tipos de acidez: (i) **libre**, (ii) **lactónica** y (iii) **total**. La primera nos da una idea del contenido en ácidos orgánicos del producto, que se encuentra en equilibrio con sus lactonas y con algunos iones inorgánicos (fosfatos, sulfatos, cloruros y nitratos) cuyos ácidos están también presentes en la miel. Por ello la (ii) **acidez lactónica** puede considerarse como una reserva de acidez, desplazándose el equilibrio químico de la reacción hacia la formación de ácidos cuando la miel se alcaliniza. La (iii) **acidez total** es la suma de la acidez libre y lactónica (de Lorenzo *et al.*, 2002).

La **conductividad eléctrica** es la capacidad de la miel para conducir la corriente eléctrica y se debe a la presencia de sales minerales, ácidos orgánicos, proteínas, azúcares y polioles (Crane, 1975). Se trata de un valor estable que apenas se modifica durante su almacenamiento. En general, existe una correlación elevada entre el contenido de cenizas y la conductividad eléctrica y ambos parámetros están íntimamente ligados a su clasificación como mieles de néctar o de mielato. Así, las mieles no florales presentan una conductividad eléctrica y un contenido en cenizas mucho más elevado que las florales. Se ha podido comprobar que las mieles de tonalidad oscura, con mayor conductividad eléctrica y contenido en cenizas, tienen una riqueza mineral superior a las claras (de Lorenzo *et al.*, 2002).

El **hidroximetilfurfural (HMF)** es un aldehído cíclico ( $C_6H_6O_3$ ) que se origina mayoritariamente por deshidratación de la fructosa en medio ácido ( $pH \approx 3,8-3,9$ ) (de Lorenzo *et al.*, 2002). Su medida es muy útil para determinar el estado de conservación y la pureza de las mieles (Bosch y Serra, 1986; Serra y Gómez, 1984), por ello, concentraciones altas de este aldehído pueden ser indicadoras de adulteraciones en la miel (de Lorenzo *et al.*, 2002). La presencia de HMF ocasiona el oscurecimiento de la

miel (de Lorenzo *et al.*, 2002). El contenido en HMF está relacionado con la humedad y la acidez de la miel y aumenta espontáneamente con el paso del tiempo, encontrándose claras diferencias entre las zonas climatológicas frías o cálidas y entre los períodos estacionales (Bosch y Serra, 1986; Estupiñán *et al.*, 1998). Por tanto, este compuesto aumenta con el incremento de la temperatura y el grado de envejecimiento (Bogdanov, 2009; de Lorenzo *et al.*, 2002; Mendizábal, 2005).

Otro parámetro relacionado con el HMF y cuyo estudio ha de realizarse conjuntamente, es la actividad enzimática **diastasa** ( $\alpha$ -amilasa, E.C. 3.2.1.1). Esta enzima se origina en las glándulas hipofaríngeas de las abejas obreras y cataliza la hidrólisis del almidón produciendo maltosa, maltotriosa y  $\alpha$ -dextrina (de Lorenzo *et al.*, 2002). La diastasa se mide para evaluar la calidad y/o historia de calentamiento de la miel (aunque no es un método biológicamente firme pues la miel varía mucho en sí misma su actividad enzimática) (Mendizábal, 2005). Por tanto, niveles elevados de HMF y bajos de diastasa, serían indicativos de una conservación inadecuada (de Lorenzo *et al.*, 2002).

### 2.1.3. Composición.

La composición de la miel (Tabla 2.2) es variable y depende principalmente de la fuente floral. Sin embargo, ciertos factores externos, como el estacional, el ambiental y el procesado, también juegan un papel clave (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b).

**Tabla 2.2.** Composición media de la miel en g del componente/100 g miel (Fuente: Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov *et al.*, 2008; Chow, 2002; Pérez, 2002; Terrab *et al.*, 2003).

Componente medio	(%)
Agua	17,2
Fructosa	38,19
Glucosa	31,28
Sacarosa	1,31
Disacáridos calculados como maltosa	7,31
Azúcares más grandes	1,5
Ácidos libres como glucónico	0,43
Lactona como gluconolactona	0,14
Ácidos totales como glucónico	0,57
Cenizas	0,169
Nitrógeno	0,041
Minerales	0,2
Aminoácidos, proteínas	0,3
Valor pH	3,9

La **miel** contiene al menos 180 componentes (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Chow, 2002) y está compuesta esencialmente por diferentes azúcares, sobre todo fructosa y glucosa, así como por otras sustancias, como ácidos orgánicos, enzimas y partículas sólidas derivadas de su recolección (BOE nº 186, 2003). Además de ser una solución sobresaturada de azúcares (sobre todo fructosa y glucosa) (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Chirife *et al.*, 2006; Pérez, 2002; Shin y Ustunol, 2005; Terrab *et al.*, 2003; Zamora y Chirife, 2006), contiene también minerales, proteínas, aminoácidos libres, enzimas y vitaminas (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Pérez, 2002; Terrab *et al.*, 2003). Se conocen varios de estos constituyentes menores por tener propiedades antioxidantes, entre los que se encuentran los ácidos fenólicos y los flavonoides (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Dimitrova *et al.*, 2007; Martos *et al.*, 2000; Tomás-Barberán *et al.*, 2001), ciertas enzimas (glucosa oxidasa (E.C. 1.1.3.4), catalasa (E.C. 1.11.1.6)) (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Molan y Betts, 2004) y los aminoácidos (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; González-Paramás *et al.*, 2006; Patzold y Bruckner, 2006; Pérez *et al.*, 2007).

La cantidad de **agua** varía entre el 14 y el 19% y tiene una relación directa con el clima y la flora (Fernández, 2011).

Los **carbohidratos** son los componentes principales de la miel (Fernández, 2011). Es una mezcla compleja de azúcares que constituyen alrededor del 95% de su peso seco (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b). Otros azúcares presentes en la miel son maltosa (7,2%), sacarosa (1,5%) y una gran variedad de oligosacáridos (4,2%) (National Honey Board, NHB, 1996). La composición de los carbohidratos y su contenido en la miel es variable y depende de la fuente floral de la miel (Swallow y Low, 1990; Weston y Brocklebank, 1999). Los oligosacáridos de la miel varían en la composición y en el grado de polimerización (Shin y Ustunol, 2005) y esta mezcla compleja puede ser útil para la determinación del origen floral de la misma (Da Costa-Leite *et al.*, 2000). Los azúcares desempeñan un papel muy importante en la conservación de la miel, ya que la presión osmótica que ejercen impide el desarrollo de las levaduras y otros gérmenes (de Lorenzo *et al.*, 2002) así como la supervivencia de la mayoría de los microorganismos patógenos (Fernández, 2011).

La miel contiene un 0,5% de **proteínas**, principalmente **enzimas** y **aminoácidos libres**. Se ha publicado el contenido de **proteínas** en miel de diferentes fuentes florales, donde se ha considerado un contenido alto a un valor alrededor de 1000 µg/g de miel



(Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Azeredo *et al.*, 2003). Las tres **enzimas** principales son diastasa (amilasa), invertasa (sacarasa,  $\alpha$ -glucosidasa, E.C. 3.2.1.26), que descompone la sacarosa hacia fructosa y glucosa y la enzima glucosa oxidasa, que produce peróxido de hidrógeno y ácido glucónico a partir de la glucosa (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b, Bogdanov *et al.*, 2008). Los **aminoácidos** cuentan un 1% (v/v). La cantidad de aminoácidos libres en la miel corresponde entre 10 y 200 mg/100 g de miel, siendo prolina el que más contribuye, con alrededor de un 50% del total de los aminoácidos libres (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Iglesias *et al.*, 2004). El polen es la principal fuente de los aminoácidos en la miel, por tanto, el perfil de los aminoácidos de una miel podría ser característico de su origen botánico (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b). Una evaluación separada de mieles florales y mielatos, muestra que la prolina y el total de aminoácidos libres son parámetros con una capacidad de diferenciación alta para distinguir entre ambos grupos de mieles; sin embargo, el contenido de proteínas no muestra ninguna capacidad de diferenciación (Pérez *et al.*, 2007).

El contenido en **minerales** es bajo (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; de Lorenzo *et al.*, 2002; Fernández, 2011). Las diferentes concentraciones de los elementos minerales y traza en la miel dependen de su origen botánico y geológico (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bengsch, 1992; de Lorenzo *et al.*, 2002; Gil y Ruiz, 2010). Los elementos traza ejercen un papel clave en las actividades biomédicas asociadas con la miel, ya que estos elementos tienen funciones biológicas (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b).

El contenido en **vitaminas** en la miel es pequeño (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; de Lorenzo *et al.*, 2002; Fernández, 2011). Entre ellas se incluyen principalmente las vitaminas C (de Lorenzo *et al.*, 2002; Fernández, 2011), el complejo B (tiamina, riboflavina, piridoxina) (de Lorenzo *et al.*, 2002) y en menor proporción las vitaminas A, K (de Lorenzo *et al.*, 2002) y D (de Lorenzo *et al.*, 2002; Fernández, 2011).

Los **compuestos polifenólicos** parecen estar relacionados con la coloración de las mieles, al menos hasta una determinada tonalidad oscura, ya que también puede tener lugar un oscurecimiento de la misma como resultado del almacenamiento (de Lorenzo *et al.*, 2002). Estos compuestos, son otro grupo importante relacionado con la apariencia y las propiedades funcionales de la miel (propiedades antioxidantes) además de su papel potencial como marcadores bioquímicos para la autenticación geográfica (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b). Así, varios autores han estudiado los contenidos fenólico

y flavonoide de las mieles para determinar si existe una correlación con los orígenes florales de las mismas (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Amiot *et al.*, 1989; Ferreres *et al.*, 1991; Martos *et al.*, 2000; Tomas-Barberán *et al.*, 2001). La distribución de las 3 familias principales de los compuestos fenólicos (ácidos benzóicos, cinámicos y flavonoides) muestra perfiles diferentes en mieles con orígenes florales distintos, siendo los flavonoides más comunes en las mieles florales. Por tanto, podría encontrarse un patrón de distribución de fenólicos característico en mieles uniflorales proveniente de las correspondientes plantas de origen (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Estevinho *et al.*, 2008; Gil *et al.*, 1995; Michalkiewicz *et al.*, 2008; Truchado *et al.*, 2008; Vela *et al.*, 2007).

Por último, los **componentes volátiles** de bajo peso molecular, son los responsables principales del aroma y del sabor de una miel, ya que muchos de estos compuestos proceden directamente de las plantas visitadas por las abejas (de Lorenzo *et al.*, 2002). El alto número de componentes volátiles de un producto alimenticio, hace que el perfil del aroma represente una “huella dactilar” del producto, que podría ser utilizado para determinar su origen (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Anklam y Radovic, 2001).

#### **2.1.4. La flora microbiana.**

La miel contiene menos microorganismos que otros alimentos naturales (Bogdanov, 2009). Como cualquier producto de origen natural -en este caso, además con la peculiaridad de su origen conjunto vegetal y animal- presenta una flora microbiana propia, como cualquier otro producto alimenticio y otro tipo de flora externa, que podemos considerar ajena o contaminante. Sin embargo, el comportamiento microbiológico de toda esta flora viene absolutamente condicionado, de manera diferente a la que ocurre en otros productos, por las características físico-químicas de este peculiar sustrato: pH ácido (3,2-4,2), humedad inferior al 25%, actividad de agua muy baja y presión osmótica muy elevada (de Lorenzo *et al.*, 2002). Sin embargo, aunque no se desarrollen, los microorganismos pueden pervivir en la miel durante largos períodos de tiempo. En general, en las mieles utilizadas para pastelería o en las comercializadas por grandes marcas, la miel será sometida a un tratamiento térmico que inactivará los microorganismos presentes en la misma. Sin embargo, en el caso de las mieles artesanales, que llegan al consumidor crudas y en ausencia de tratamientos

térmicos, es importante el estudio cuantitativo y cualitativo de su flora microbiana (de Lorenzo *et al.*, 2002).

En lo referente a la flora propia de la miel, algunos microorganismos presentes en la miel provienen i) del néctar de las flores y ii) del contacto con las propias abejas (de Lorenzo *et al.*, 2002). Ruiz y Rodríguez (1975) identificaron los principales géneros bacterianos presentes en el néctar de las flores como *Gluconobacter* y *Lactobacillus*. Asimismo, existe una variada flora microbiana del género *Bacillus*, fundamentalmente en estado esporulado. En mieles de extracción reciente pueden encontrarse formas vegetativas (de Lorenzo *et al.*, 2002). Estos *Bacillus* no son peligrosos o patógenos (Bogdanov, 2009; de Lorenzo *et al.*, 2002) ni deterioran la miel (de Lorenzo *et al.*, 2002). Dentro de la flora natural de la miel se encuentran también los hongos y las levaduras (de Lorenzo *et al.*, 2002) como las osmotolerantes, que pueden causar una fermentación indeseable, ya que se desarrollan particularmente en mieles con un contenido en humedad alto (Bogdanov, 2009).

En cuanto a la flora microbiana externa o accidental a la miel, es decir, las contaminaciones microbianas, consideraremos como tal toda la flora microbiana que se introduzca en la miel de manera fortuita, normalmente por manipulaciones poco higiénicas durante la extracción y/o procesado de la misma (de Lorenzo *et al.*, 2002).

En la Orden de 5 de Agosto de 1983 (BOE de 16/8/83) se aprobó la Norma de Calidad para la miel destinada al mercado interior, especificándose la Norma Microbiológica aplicable a la misma (de Lorenzo *et al.*, 2002) (Tabla 2.3).

**Tabla 2.3.** Norma microbiológica aplicable a la miel (Fuente: BOE nº 193, 16/8/83).

Gérmenes patógenos o toxinas	Ausencia
<b>Aerobios mesófilos totales (31°C)</b>	< 1x 10 <sup>4</sup> ufc/g
<b><i>Enterobacteriaceae</i> totales</b>	Ausencia/g
<b><i>Escherichia coli</i></b>	Ausencia/g
<b><i>Salmonella-Shigella</i></b>	Ausencia/25 g
<b>Mohos</b>	< 1x 10 <sup>2</sup> ufc/g

Si en una muestra de miel se detecta la presencia de *Enterobacteriaceae*, es obligatoria la investigación para excluir la presencia de patógenos potenciales como *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella*. Otros microorganismos no citados específicamente en la Norma de Calidad microbiológica, pero detectados con cierta frecuencia en la miel, son

*Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, *Bacillus cereus* y *Leuconostoc sp* (de Lorenzo *et al.*, 2002). Todos ellos pueden estar presentes en la miel sin que el producto sufra ningún tipo de alteración detectable por el consumidor (Gallego *et al.*, 2000). Además de los microorganismos mencionados, la miel puede contener esporas de *Clostridium botulinum*. El microorganismo provendría de la contaminación de flores, polen o abejas a partir del suelo. Por esta razón, la miel no es un producto recomendable para niños con menos de un año de vida (de Lorenzo *et al.*, 2002). Aunque la miel no tiene las condiciones necesarias para el desarrollo de esta toxina, debido a su osmolaridad y acidez, el microorganismo puede desarrollarse en el intestino de los lactantes al no estar aún su sistema inmune totalmente desarrollado, dando lugar al botulismo infantil, una enfermedad rara e importante que afecta al sistema nervioso (de Lorenzo *et al.*, 2002).

La Orden de 5 de Agosto de 1983 fue derogada y el Real Decreto (RD) 1049/2003 de 1 de Agosto aprobó la Norma de Calidad relativa a la miel (BOE nº186, 5/08/03) en la que no se recogen normas microbiológicas de la misma. El Reglamento (CE) nº 2073/2005, de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, recoge las normas microbiológicas de los alimentos, entre ellos, los de la miel (Tabla 2.4).

**Tabla 2.4.** Criterios microbiológicos aplicables a la miel (Fuente: DOUE 22/12/2005, L338/1-26).

Categoría De alimentos	Microorganismos	Plan de muestreo ( <sup>1</sup> )		Límites		Fase en la que se aplica el criterio
		n	c	m	M	
<b>1.3. Alimentos listos para el consumo que no pueden favorecer el desarrollo de <i>Listeria monocytogenes</i>, que no sean los destinados a los lactantes ni para usos médicos especiales (<sup>4</sup>) (<sup>8</sup>)</b>	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		Productos comercializados durante su vida útil

(<sup>1</sup>) n = número de unidades que componen la muestra; c= número de muestras que dan valores entre m y M.

(<sup>4</sup>) En circunstancias normales no se exige realizar pruebas regulares con respecto a este criterio para los siguientes productos alimenticios listos para el consumo: -azúcar, miel y golosinas, incluidos productos de cacao y chocolate.

(<sup>8</sup>) Se considera automáticamente que pertenecen a esta categoría los productos con pH ≤ 4,4 o a<sub>w</sub> ≤ 0,92, productos con pH ≤ 5,0 y a<sub>w</sub> ≤ 0,94 y los productos con una vida inferior a 5 días. Otras categorías de productos también pueden pertenecer a esta categoría, siempre que se justifique científicamente.

### 2.1.5. Propiedades.

#### 2.1.5.1. Propiedad nutritiva.

La **miel** es un alimento natural muy valorado por los consumidores por sus propiedades nutritivas (de Lorenzo *et al.*, 2002).

La proporción alta de hidratos de carbono, hace que sea un alimento muy energético, con un aporte alrededor de 340 kcal/100 g de miel (de Lorenzo *et al.*, 2002; Fernández, 2011; Gil y Ruiz, 2010; Rodríguez y Simón, 2008), un sabor dulce y agradable además de ser un alimento fácilmente digerible por el organismo, por lo que su aplicación más conocida en alimentación es como edulcorante de uso directo, con mayor poder edulcorante que el azúcar (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Entre los componentes nitrogenados se encuentran las proteínas, los prótidos y los aminoácidos libres aunque en proporciones muy bajas (de Lorenzo *et al.*, 2002).

La proporción de las sustancias minerales en la miel también es escasa, pero éstas son muy disponibles y hacen que popularmente se considere a la miel un producto adecuado cuando se necesita realizar actividades intelectuales y con fines antianémicos y recalificantes debido a la presencia de fósforo, hierro y calcio, respectivamente. Sin embargo, debido a la baja proporción de estas sustancias en la miel, de hasta un 1% en total, se cuestionan estos efectos. Además, las mieles más oscuras parecen ser más ricas en fosfato de calcio y en hierro que las claras (de Lorenzo *et al.*, 2002). Los elementos minerales en la miel son capaces de conferirle un valor nutritivo y energético muy superior al de otros azúcares refinados y jarabes. De entre estos elementos traza cabe citar la presencia de calcio, magnesio, hierro, cobre, manganeso, boro, fósforo, silicio y cloro (de Lorenzo *et al.*, 2002). Desde el punto de vista nutricional, el contenido de cromo, manganeso y selenio, puede cubrir una proporción elevada de los requerimientos diarios, sobre todo en niños y adolescentes (Gil y Ruiz, 2010).

El contenido en vitaminas es bajo (de Lorenzo *et al.*, 2002). Las mieles oscuras son más ricas en vitaminas B y C que las que poseen una coloración menor, las cuales son generalmente más ricas en vitamina A (de Lorenzo *et al.*, 2002; Mendizábal, 2005; Pardo, 2005).

Por tanto, el contenido bajo en grasa y fibra, junto con las cantidades bajas de aminoácidos esenciales, vitaminas, proteínas y minerales (Gil y Ruiz, 2010; Rodríguez y Simón, 2008) hacen que este alimento, aún consumido en grandes cantidades (100 g al día), solo cubra una pequeñísima proporción de los nutrientes esenciales (Gil y Ruiz, 2010).

Es importante considerar que las mieles comerciales pueden carecer en determinados casos de las propiedades beneficiosas detalladas anteriormente, debido a que muchas veces se realiza una mezcla, con mieles importadas con una calidad escasa y con un precio bajo, con el consiguiente perjuicio a la actividad apícola nacional y a la valoración general del producto de (Lorenzo *et al.*, 2002). Por otro lado, el proceso para el mantenimiento de la miel en forma líquida o fluida, supone una cierta manipulación del producto, así como la pérdida de un carácter identificativo de la miel y finalmente, los tratamientos térmicos de pasteurización afectan a la calidad de la miel, al dar lugar a la destrucción de las actividades enzimáticas y los componentes de la actividad biológica así como a las pérdidas del aroma o a la modificación del sabor (de Lorenzo *et al.*, 2002).

#### **2.1.5.2. Propiedad antioxidante.**

Existen algunas referencias históricas sobre la utilidad de la miel como conservante aunque no siempre de alimentos. A pesar de que el uso de la miel como antioxidante forma parte de la cultura tradicional, el interés por evaluar su aplicación potencial como antioxidante en la preparación de alimentos, así como el interés por los compuestos implicados en dicho proceso, es reciente (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Los compuestos que contribuyen a la actividad antioxidante de la miel incluyen flavonoides, ácidos fenólicos, enzimas (glucosa oxidasa, catalasa), ácido ascórbico, carotenoides, ácidos orgánicos, productos de la reacción de Maillard, aminoácidos y proteínas (Aljadi y Kamaruddin, 2004; Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Beretta *et al.*, 2005; Blasa *et al.*, 2006; D'Arcy, 2005; Estevinho *et al.*, 2008; Fahey y Stephenson, 2002; Frankel *et al.*, 1998; Gheldof *et al.*, 2002, 2003; Inoue *et al.*, 2005; McKibben y Engeseth, 2002; Nagai *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2007; Vela *et al.*, 2007). La capacidad antioxidante de la miel varía dependiendo del origen de la misma (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Frankel *et al.*, 1998) y parece estar relacionada con su color, siendo superior en

mieles de fuerte coloración (Frankel *et al.*, 1998). Algunos aminoácidos también tienen propiedades antioxidantes (Wu *et al.*, 2003) y se ha observado una correlación alta entre los contenidos de prolina y la actividad de captura radicalica de las mieles, siendo esta correlación mayor que la obtenida para los compuestos fenólicos totales (Meda *et al.*, 2005; Pérez *et al.*, 2007). Esto sugiere que el contenido de aminoácidos de la miel debería tenerse más en cuenta al determinar su actividad antioxidante (Meda *et al.*, 2005).

### 2.1.5.3. Propiedad antimicrobiana.

Además de las características conocidas y los beneficios de la **miel** como producto alimenticio, es un producto tradicionalmente utilizado en medicina, tanto sola como combinada con otras sustancias, mediante administración oral o tópica (de Lorenzo *et al.*, 2002).

La **actividad antibacteriana** de la miel parece deberse a la presencia de determinadas sustancias antibacterianas o “inhibinas” (de Lorenzo *et al.*, 2002). Hay dos tipos, la debida al peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) producido por la enzima glucosa oxidasa (de Lorenzo *et al.*, 2002; Molan y Russell, 1988) y la debida a componentes distintos al  $H_2O_2$  (Cabrera *et al.*, 2006; de Lorenzo *et al.*, 2002). La enzima glucosa oxidasa procede de las glándulas hipofaríngeas de las abejas (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; de Lorenzo *et al.*, 2002; Taormina *et al.*, 2001).

La concentración alta de azúcares presentes en la miel, da lugar a fuertes interacciones entre estos azúcares y las moléculas de agua, dejando muy pocas moléculas de agua disponibles, por lo que la actividad de agua es demasiado baja para el desarrollo de las bacterias, las levaduras y los mohos (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Por otro lado, la miel es un producto ligeramente ácido que presenta valores de pH entre 3,2 y 4,5, que son generalmente adecuados para la inhibición del crecimiento de numerosas especies patógenas. Así, los valores de pH mínimos de crecimiento para *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pyogenes* son de 4,3, 4,0, 4,4 y 4,5 respectivamente y el pH óptimo suele estar ente 7,2 y 7,4 (de Lorenzo *et al.*, 2002). Por ello, en la aplicación tópica de la miel sin diluir ésta puede actuar como un efectivo antimicrobiano, mientras que en su aplicación oral, el pH no debe ser tan bajo debido a la dilución de la misma y por tanto, en estas condiciones, la

acidez no puede ser considerada como la causa de una efectiva inhibición bacteriana (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Asimismo, la viscosidad de la miel proporciona una barrera protectora que previene la infección de la herida (de Lorenzo *et al.*, 2002).

#### **2.1.6. Uso.**

Aunque el uso de la **miel** mediante aplicación directa sigue siendo el preferido, son numerosas las recetas que la incorporan en la preparación, no sólo de alimentos dulces (caramelos, turrone, tortas, tartas...), sino también en la elaboración de salsas (agridulces o de ensalada), preparaciones de jamones y carnes y en bebidas (hidromiel, cerveza...) (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Debido a sus características, la utilización de la miel en la industria de los alimentos permite (de Lorenzo *et al.*, 2002):

- Humectar los alimentos.
- Mejorar la presentación de preparados gratinados.
- Realzar el sabor de los preparados.
- Sustituir al sodio.
- Conservar distintos tipos de alimentos debido a su actividad antioxidante y actividad antibacteriana.

Los principales componentes relevantes para la nutrición y la salud son los carbohidratos, que la hacen una excelente fuente de energía, especialmente para niños y deportistas. Además, contiene otros constituyentes en cantidades pequeñas que producen numerosos efectos nutricionales y biológicos: actividades antimicrobiana, antioxidante, antiviral, antiparasitaria, antiinflamatoria, antimutagénica y anticancerígena. La miel ofrece ventajas en el control del crecimiento bacteriano y en el tratamiento de ciertos problemas de salud (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b). También, debido al contenido de trisacáridos y oligosacáridos, se ha mostrado como un producto prebiótico eficaz cuando se añade a derivados lácticos fermentados, promoviendo el desarrollo de bifidobacterias (Gil y Ruiz, 2010).

En lo referente al uso de la miel en medicina, investigaciones recientes han confirmado científicamente su efectividad como (Gil y Ruiz, 2010):



- Cicatrizante de heridas (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Gil y Ruiz, 2010; Molan, 2001), quemaduras y úlceras de la piel (Gil y Ruiz, 2010).
- Agente antibacteriano de aplicación tópica en el tratamiento del acné y los eccemas atópicos.
- Ungüento para tratar la conjuntivitis y la blefaritis.
- Hidratante y antibacteriano en el tratamiento de diarreas y gastroenteritis bacterianas infantiles sustituyendo a las soluciones de glucosa y electrolitos. Además, tiene la ventaja adicional de promover la reparación de la mucosa intestinal dañada, estimulando el crecimiento de nuevos tejidos y actuando como antiinflamatorio.
- Tratamiento de úlceras pépticas.
- Efecto antiinflamatorio, cuando se ingiere en cantidades superiores a 70 g/día.

En cuanto a enfermedades como el cáncer, la miel es efectiva en las enfermedades y/o reacciones de la piel producidas por el tratamiento de la radioterapia en pacientes de oncología pediátrica (Bardy *et al.*, 2008; Biswal *et al.*, 2003; Chiba *et al.*, 1985; English *et al.*, 2004; Moolenaar *et al.*, 2006; Simon *et al.*, 2006; Smirnova *et al.*, 2000). Por sus propiedades antimicrobiana y antioxidante, la miel actúa como conservante de los alimentos que la utilizan como ingrediente (Gil y Ruiz, 2010).

#### **2.1.7. Cristalización.**

La cristalización de la miel (Figura 2.4) consiste en la solidificación de la misma debido a la precipitación de la glucosa (Gil y Ruiz, 2010). Este fenómeno, también llamado granulación, disminuye la concentración de glucosa en la fase líquida y además incrementa la actividad de agua la cual puede permitir la multiplicación de las levaduras causando la fermentación de la miel (Zamora y Chirife, 2006). Los cristales formados en este proceso pueden ser gruesos (más de 0,5 mm) o finos (hasta 0,5 mm) (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Todas las mieles cristalizan con el tiempo (de Lorenzo *et al.*, 2002; Zamora y Chirife, 2006), pero mientras unas lo hacen casi en la colmena, otras tardan muchos meses en hacerlo (de Lorenzo *et al.*, 2002).



**Figura 2.4.** Fotografía de un tarro con miel cristalizada (Fuente: Dra. Cristina de Lorenzo).

La cristalización de la miel, es una de las modificaciones más llamativas desde el punto de vista del consumidor (Gil y Ruiz, 2010). Mientras unos consumidores prefieren la miel líquida, a otros les gusta cristalizada. Es un fenómeno natural que no significa el deterioro ni la pérdida de las propiedades nutritivas de la miel (de Lorenzo *et al.*, 2002). La miel es higroscópica, es decir, absorbe humedad del ambiente y eso puede llegar a ocasionar su deterioro. Por ello, es conveniente mantenerla bien cerrada para que no absorba humedad y no guardarla en sitios muy frescos, para que no cristalice (de Lorenzo *et al.*, 2002).

## **2.2. CARNE.**

### **2.2.1. Historia.**

La carne fue un alimento valorado y aceptado en la dieta humana, con la única limitación de la dificultad de conseguirla. El hombre tuvo siempre una gran apetencia por la carne: primero, con las capturas de caza y después, mediante la domesticación de animales que daba seguridad al suministro de carne, huevos y leche (Vázquez *et al.*, 2005).

Se conocen vacas domesticadas en el año 4000 a. C. y en esta misma época ya existían el cerdo y las ovejas, que fueron traídos a España por los fenicios (Vázquez *et al.*, 2005). Los chinos hicieron del arroz y el mijo sus alimentos básicos acompañados

de carne de cerdo, de pollo y de pato como fuente de proteínas animales; los productos lácteos no eran consumidos y se consideraban propios de mongoles y tibetanos (Vázquez *et al.*, 2005). Hoy en día, la carne de los animales constituye la base de la alimentación humana y su industria es una de las más importantes en el ámbito de la alimentación (Pascual y Calderón, 2000).

### 2.2.2. Definición.

La **carne** es la parte muscular comestible de los animales de abasto, sacrificados y faenados en condiciones higiénicas. Se incluyen en este concepto las porciones de grasa, hueso, cartílago, piel, tendones, aponeurosis, nervios y vasos linfáticos y sanguíneos que normalmente acompañan al tejido muscular y que no se separan de éste en los procesos de manipulación, preparación y transformación de la carne (Pascual y Calderón, 2000).

Se entiende por **carne picada** (Figura 2.5) el producto constituido por carne magra de vacuno o de ovino o de porcino, debidamente picada, que no ha sufrido ni la acción del calor, ni la maduración, ni la maceración (BOE nº 18, 1986).



**Figura 2.5.** Fotografía de falda de ternera picada cruda (Fuente: Dra. Cristina de Lorenzo).

### 2.2.3. Composición.

La carne está constituida mayoritariamente por agua (65-80%), proteínas (16-22%) y grasa (2-13%) aunque también posee pequeñas cantidades de otras sustancias como las nitrogenadas no proteicas (aminoácidos libres, péptidos, nucleótidos, creatina, etc), carbohidratos, ácido láctico, minerales, vitaminas, etc. La composición de la carne depende de la especie y dentro de la misma especie, puede variar ampliamente dependiendo de diversos factores como la edad, el sexo, la alimentación y la zona anatómica estudiada (Hernández y Sastre, 1999) (Tabla 2.5).

**Tabla 2.5.** Composición de las piezas típicas de vacuno (Fuente: Ranken, 2003).

	Músculo	Grasa	Tejido conectivo	Huesos
	Aproximadamente (%)			
<b>Redondo</b>	59	5	11	15
<b>Pecho</b>	48	18	17	17
<b>Pescuezo</b>	48	8	19	25
<b>Falda</b>	58	17	25	0

El **agua** de la canal se encuentra principalmente en el tejido muscular magro: el tejido adiposo contiene poca agua. Por tanto, cuanto mayor sea la proporción de grasa, tanto menor será el contenido acuoso total de la canal o de una pieza de carne. Esta relación inversa es independiente de otros factores que afectan a la composición química corporal, como sexo, raza, edad, alimentación, etc (Hernández y Sastre, 1999).

Muchas de las propiedades físicas de la carne, como el color, la textura y la firmeza de la carne cruda, así como la jugosidad, la palatabilidad y la dureza de la carne cocinada, dependen en parte de la capacidad de retención de agua de la carne, íntimamente relacionada con el pH final de la misma (Hernández y Sastre, 1999).

La mayor parte de las sustancias nitrogenadas de la carne está constituida por las **proteínas**, que casi siempre son los componentes más abundantes de la carne, superados únicamente por el agua. Las proteínas de la carne son, en esencia, muy similares en todos los animales de abasto, pudiéndose clasificar atendiendo a su solubilidad en tres grandes grupos (Hernández y Sastre, 1999):

- Proteínas sarcoplásmicas. Son solubles en agua o en tampones de poca fuerza iónica. A este grupo pertenecen dos tipos principales de proteínas: el primero compuesto de enzimas y el segundo de sustancias que participan en el color de la carne como mioglobina y pequeñas cantidades de hemoglobina, dado que ésta se elimina, en su mayoría, durante la sangría.
- Proteínas miofibrilares. Necesitan para su extracción el uso de tampones de fuerza iónica media o alta. Son las más abundantes, constituyendo el 65-75% del total de las proteínas musculares. En este grupo se incluye un gran número de proteínas asociadas con los filamentos gruesos y delgados del tejido muscular, destacando la actina, miosina, actomiosina, tropomiosina, troponina, actininas y proteínas C y M. Todas estas proteínas tienen, de una u otra forma, una gran importancia en los cambios bioquímicos que suceden tras el sacrificio del animal.
- Proteínas solubles o del estroma. Constituyen las fibras extracelulares de colágeno, elastina y reticulina, que a su vez, forman parte del tejido conectivo típico que recubre las fibras y los haces musculares.

Entre los componentes básicos de la carne (humedad, proteína, grasa y ceniza) el más variable, tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo, es la fracción grasa (Hernández y Sastre, 1999).

#### 2.2.4. Calidad de la carne.

En la calidad de la carne hay que contemplar 3 aspectos englobados bajo ese término: calidad higiénica, calidad organoléptica y calidad nutritiva (Hernández y Sastre, 1999).

La **calidad nutritiva** de un alimento está determinada por el aporte cualitativo y cuantitativo de nutrientes que contribuyen a la dieta alimenticia (Gil y Ruiz, 2010). La carne es un alimento excelente por su valor nutritivo alto, debido a la riqueza proteica de su constitución (Pascual y Calderón, 2000). Como aspectos más importantes pueden citarse (Caravaca *et al.*, 2003):

- Contiene proteínas de alta calidad, digestibles y que aportan un buen porcentaje de las necesidades proteicas diarias de una persona.
- Posee vitaminas del grupo B.
- Contiene minerales como el hierro y el fósforo.

La **calidad higiénica** afecta al crecimiento microbiano en la superficie de la carne. La carne de los animales sanos puede considerarse, en su interior, como un producto exento de microorganismos o, si los hay, son muy escasos. Además, éstos son mesófilos y su crecimiento se inhibe e incluso se detiene a temperaturas de refrigeración. Una carne obtenida con buenas prácticas de fabricación puede tener, después del sacrificio y de manipulaciones posteriores, una carga bacteriana inicial del orden de  $10^3$ - $10^4$  ufc/cm<sup>2</sup>. La práctica totalidad de la carne destinada al consumo en fresco se somete a refrigeración durante toda la cadena de distribución: primero en los mataderos, más tarde en los almacenes frigoríficos de los locales de venta y en las vitrinas de venta al consumidor y finalmente, en los frigoríficos domésticos (Hernández y Sastre, 1999).

La Orden de 14 de enero de 1986 aprobó la norma de calidad para carnes picadas de vacuno, ovino y porcino destinadas al mercado interior (BOE nº 18, 1986). El punto que recogía la norma microbiológica aplicable a la carne picada fue derogado en el RD 135/2010 de 12 de Febrero (BOE nº 49, 2010) estando conforme con el Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión de 15 de Noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, en concreto de la carne picada (Tabla 2.6).

**Tabla 2.6.** Criterios microbiológicos aplicables a carne picada (Fuente: DOUE 22/12/2005, L338/1-26).

Categoría de alimentos	Microorganismos	Plan de muestreo <sup>(1)</sup>		Límites		Fase en la que se aplica el criterio	Acción en caso de resultados insatisfactorios
		n	c	m	M		
<b>2.1.6. Carne picada</b>	Recuento de colonias aerobias <sup>(7)</sup>	5	2	$5 \times 10^5$ ufc/g	$5 \times 10^6$ ufc/g	Final del proceso de fabricación	Mejoras en la higiene de la producción y mejoras en la selección y/o el origen de las materias primas
	<i>Escherichia coli</i> <sup>(8)</sup>	5	2	50 ufc/g	500 ufc/g		

<sup>(1)</sup> n= número de unidades que componen la muestra; c= número de muestras que dan valores entre m y M.

<sup>(7)</sup> Este criterio no se aplicará a la carne picada producida para el comercio al por menor cuando la vida útil del producto sea inferior a 24 horas.

<sup>(8)</sup> En este caso se recurre a *E. coli* como indicador de contaminación fecal.

## 2.3. ALTERACIÓN DE LOS ALIMENTOS.

### 2.3.1. Definición.

La alteración de los alimentos es la modificación de los caracteres organolépticos, de la composición química o del valor nutritivo de un alimento por causas no provocadas deliberadamente, de tal forma que la aptitud para su consumo queda anulada o disminuida, aunque permanezca inocuo (Hernández y Sastre, 1999).

En toda alteración debemos destacar que (Hernández y Sastre, 1999):

- Se producen cambios sustanciales que limitan el aprovechamiento de un alimento.
- Resulta difícil definir el comienzo de la alteración.
- El problema es tan complejo que algunos especialistas sostienen que un alimento debe ser considerado como alterado cuando un cierto número de personas rehúsa comerlo.
- Es fundamental conocer las características típicas de todos los alimentos para conocer cuándo comienza la aparición de los cambios deletéreos en el color, el olor, el sabor, el aroma y la consistencia.

### 2.3.2. Principales causas de alteración de los alimentos.

Se pueden distinguir 3 tipos de alteraciones de los alimentos atendiendo a sus principales causas u origen: agentes físicos, químicos o biológicos (Bello, 2000; Salas *et al.*, 2005).

#### 2.3.2.1. Agentes físicos.

Los **agentes físicos** suelen actuar durante los procesos de la cosecha y los tratamientos posteriores (Salas *et al.*, 2005). Estas alteraciones están vinculadas a la manipulación durante la recolección de productos vegetales, a la evaporación del agua, a los cambios provocados por los procesos tecnológicos de preparación y conservación y a la acción dañina de parásitos, roedores, etc (Bello, 2000).

En general, por sí mismos, no suelen producir una alteración de las características nutricionales de los alimentos, pero sí de su apetencia (Salas *et al.*, 2005).

El hecho más importante es que pueden significar una vía de entrada para las otras alteraciones. Entre las alteraciones de tipo físico podemos destacar (Salas *et al.*, 2005):

- Las mecánicas, como golpes, cortes, en general sin graves alteraciones, pero que suponen una disminución de la vida útil del alimento.
- La temperatura, ya que las actividades químicas y enzimáticas doblan su velocidad cada 10 °C y por tanto, aceleran los procesos naturales de descomposición. Asimismo, encontramos nutrientes especialmente sensibles al calor. La temperatura también propicia los cambios de estado de emulsiones o mezclas que contengan agua, al facilitar su desecación.
- La humedad puede originarse en los mismos alimentos o tener un origen ambiental. Su efecto más importante es facilitar el desarrollo de los microorganismos.
- El aire, especialmente por contener oxígeno que puede alterar algunas proteínas, producir cambios de color, facilitar la oxidación, etc.
- La luz, que afecta al color y a algunas vitaminas.

#### **2.3.2.2. Agentes químicos.**

Los **agentes químicos** se manifiestan especialmente durante los procesos de almacenamiento de los alimentos, sin depender de la actividad enzimática de éstos. Su efecto puede afectar de forma considerable al alimento: enranciamiento, pardeamiento, etc (Salas *et al.*, 2005).

##### **2.3.2.2.1. Pardeamiento no enzimático: reacción de Maillard.**

El pardeamiento no enzimático o reacciones de Maillard recogen una serie de reacciones complejas entre los azúcares y los compuestos nitrogenados (proteínas) (Salas *et al.*, 2005). Este proceso se caracteriza por la generación de pigmentos oscuros o marrones (Hernández y Sastre, 1999; Salas *et al.*, 2005), que producen una modificación del olor y del sabor (Hernández y Sastre, 1999). Los cambios del olor, del sabor y del color pueden ser beneficiosos o indeseables. Además, los productos de la reacción de Maillard pueden ejercer un efecto antioxidante y proteger a los lípidos de la oxidación (Gil y Ruiz, 2010). Esta reacción se produce en algunos casos de manera tecnológica, pero en otras son espontáneas. En general, el calor y la desecación los favorecen (Salas *et al.*, 2005).



### 2.3.2.2.2. Enranciamiento de lípidos.

La importancia de la oxidación tanto en el cuerpo como en los alimentos ha sido ampliamente reconocida (Antolovich *et al.*, 2002). Además, hay un interés por los radicales libres debido a su posible implicación con algunas de las principales causas de mortalidad en los países occidentales, tales como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares (Hernández y Sastre, 1999).

La oxidación lipídica es uno de los factores responsables del deterioro de la calidad de los alimentos durante el almacenamiento (Gray *et al.*, 1996; Johnston *et al.*, 2005), entre ellos, de la carne y los productos cárnicos (Frankel, 1993; Gray *et al.*, 1996; Ross y Smith, 2006).

Esta reacción causa entre otros, el desarrollo de aromas y *flavor* (sensación conjunta de sabor y olor, de Lorenzo *et al.*, 2002) extraños, la decoloración (Addis y Park, 1989; Ahn *et al.*, 1992; Johnston *et al.*, 2005; Kanner, 1994; Morrissey *et al.*, 1998; Ross y Smith, 2006; Shahidi, 1994), la formación de sustancias carcinogénicas (Ahn *et al.*, 1992; Shahidi, 1994) y tóxicas (Morrissey *et al.*, 1998) y la disminución de la vida útil (Ahn *et al.*, 1992; Shahidi, 1994).

La oxidación lipídica de la carne depende de varios factores entre ellos, la especie (por ejemplo, en la carne de porcino es siempre más rápida que en la de ovino, debido a que la grasa de cerdo contiene un mayor número de ácidos grasos insaturados que la de ovino) y dentro de la misma especie, del músculo (la grasa de los músculos rojos es más propensa a oxidarse que la de los blancos, probablemente debido a su mayor contenido en hierro). Por tanto, cabe esperar un comportamiento diferente de la oxidación lipídica dependiendo del músculo que se trate, se producirá a más velocidad en aquellos músculos con un contenido mayor de mioglobina (López y Casp, 2004).

Uno de los constituyentes más importantes de la carne y los productos cárnicos son los lípidos, que tienen un papel importante en el desarrollo del aroma y sabor característico de estos alimentos. Durante el proceso de elaboración, los lípidos sufren una serie de transformaciones bioquímicas que modifican sus características, algunas de ellas deseables (formación del aroma característico de determinados productos cárnicos), mientras que el resto (la mayoría) provocan fenómenos de enranciamiento en dichos productos (Fernández *et al.*, 1997). El enranciamiento oxidativo o la oxidación lipídica

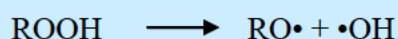
es un proceso químico autocatalítico que ocurre a nivel de los ácidos grasos, en particular aquellos que son poliinsaturados, tanto esterificados como libres (Fernández *et al.*, 1997; López y Casp, 2004).

La oxidación (autooxidación) de las grasas se desarrolla en tres etapas (Allen y Hamilton, 1983; Fernández *et al.*, 1997): (i) iniciación, (ii) propagación y (iii) terminación (Figura 2.6).

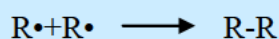
**Iniciación.** Reacción del oxígeno con los carbonos vecinos a las insaturaciones y formación de radicales libres:



**Propagación.** Reacción en cadena, formación de hidroperóxidos y radicales libres:



**Terminación.** Formación de compuestos secundarios que frenan la propagación:



**Figura 2.6.** Esquema de las etapas de la oxidación lipídica (Fuente: Fernández *et al.*, 1997).

En sistemas musculares, la oxidación lipídica se (i) inicia a nivel de la membrana en las fracciones fosfolipídicas intracelulares (Gray *et al.*, 1996). Es un proceso complejo mediante el cual los ácidos grasos insaturados reaccionan con el oxígeno molecular vía mecanismo de radical libre (Asghar *et al.*, 1988; Ross y Smith, 2006).

Entre los distintos factores que afectan a la oxidación lipídica se encuentran la luz, la concentración de  $O_2$ , la temperatura (calor) (Allen y Hamilton, 1983; Antolovich *et al.*, 2002; Kanner *et al.*, 1987; Skibsted *et al.*, 1998), las radiaciones (Allen y Hamilton, 1983; Antolovich *et al.*, 2002; Kanner *et al.*, 1987), la presencia de antioxidantes y prooxidantes, el grado de insaturación de ácidos grasos, la presencia de enzimas (Skibsted *et al.*, 1998) y la acción de catalizadores metálicos en la carne (Antolovich *et al.*, 2002; Kanner *et al.*, 1987; Love, 1983), que pueden proceder del grupo hemo (mioglobina) o de otras fuentes como el agua (iones magnesio) (Knipe,

1993) y la sal (impurezas de cobre y manganeso) (Allen y Hamilton, 1983; Kanner *et al.*, 1987) añadida a los productos cárnicos procesados (Cheng *et al.*, 2007; Han y Rhee, 2005; King y Earl, 1988).

Los principales productos primarios de la (ii) reacción de propagación, los hidroperóxidos, son compuestos inestables y sin aromas que al reaccionar con los radicales se (iii) descomponen en un amplio rango de compuestos secundarios (Fernández *et al.*, 1997; Ross y Smith, 2006), que incluyen alcanos, alquenos, aldehídos (pentanal, hexanal y malonaldehído), cetonas, alcoholes, ésteres, ácidos e hidrocarburos (Raharjo y Sofos, 1993; Ross y Smith, 2006).

El resultado de las reacciones que se producen, es la formación de numerosas sustancias o compuestos volátiles de bajo peso molecular (aldehídos, cetonas, ácidos grasos, epóxidos, etc.) que confieren al producto un olor y sabor característicos (“a rancio”) (López y Casp, 2004; Salas *et al.*, 2005). De estos compuestos, se considera a los aldehídos como los más importantes, ya que poseen valores umbrales del olor bajos y son los que más contribuyen al desarrollo de *flavor* extraño y aromas u olores a rancio (Ladikos y Lougovois, 1990; Ross y Smith, 2006).

Por tanto, los cambios que repercuten sobre las grasas afectarán de manera decisiva a la aceptabilidad de estos productos por el consumidor (Fernández *et al.*, 1997). Además, la autooxidación de los lípidos insaturados y el colesterol da lugar a la generación de compuestos potencialmente tóxicos (Addis y Park, 1989). Entre los compuestos secundarios, concretamente entre los aldehídos, el malonaldehído (MDA) se considera un iniciador carcinogénico (Kurechi *et al.*, 1980) y mutagénico y por lo tanto, puede afectar a la seguridad del alimento (Fernández *et al.*, 1997). Además, el tipo (microondas, asado), el tiempo y la temperatura de cocinado afectan el contenido en este compuesto (Fernández *et al.*, 1997).

#### 2.3.2.3. Agentes biológicos.

Las **alteraciones biológicas** tienen su origen en alguna actividad de tipo biológico (Bello, 2000) siendo entonces los agentes alterantes más importantes de los alimentos, entre los que podemos diferenciar los de origen intrínseco (enzimas) y los extrínsecos, como los parásitos o los microorganismos (Salas *et al.*, 2005).

#### **2.3.2.3.1. Intrínsecos: enzimas.**

Generalmente las enzimas sobreviven a los propios organismos, pudiendo incluso aumentar su actividad. Algunas enzimas cambian la textura de los alimentos (maduración de la fruta o reblandecimiento de la carne), pero pueden acabar provocando su descomposición (Salas *et al.*, 2005). Por ejemplo, el *rigor mortis* de los animales es debido a cambios enzimáticos generados al faltar el riego sanguíneo y la oxigenación necesaria para el metabolismo aerobio. También hay que mencionar el enranciamiento enzimático debido a lipooxigenasas (E.C. 1.13.1.13) y lipasas (E.C. 3.1.1.3), cuya acción ocurre de forma característica por ejemplo en los productos lácteos (Salas *et al.*, 2005). La actividad enzimática residual del metabolismo celular y vegetal, es la segunda causa importante de la alteración biológica después de la alteración de los alimentos almacenados por microorganismos (Bello, 2000).

#### **2.3.2.3.2. Extrínsecos.**

##### **2.3.2.3.2.1. Parásitos o competidores naturales.**

Los parásitos o competidores naturales como los insectos, los roedores y los pájaros compiten por la obtención del alimento. Adicionalmente suelen producir vías de entrada para los microorganismos (Salas *et al.*, 2005). Suelen determinar el rechazo organoléptico del alimento y por tanto la pérdida de su valor comercial (Hernández y Sastre, 1999).

##### **2.3.2.3.2.2. Microorganismos.**

La acción de los microorganismos (bacterias, mohos y levaduras) (Hernández y Sastre, 1999; Salas *et al.*, 2005) es la causante de las transformaciones más indeseadas y la más abundante (Salas *et al.*, 2005). En algunos casos pueden suponer riesgos para la salud de las personas, siendo las infecciones microbianas el problema más grave en la alimentación humana, después del hambre y la sobrealimentación. Se trata de un tipo de transformación muy variable, ya que depende del tipo y la cantidad relativa de las diferentes especies de los microorganismos. No obstante, no todos los efectos son negativos ya que diversos alimentos, como los fermentados, se producen total o parcialmente por ellos. En muchas ocasiones, los microorganismos ya se encuentran en el alimento. Entre los microorganismos más perjudiciales tenemos las bacterias, tanto

por su abundancia como por su elevada tasa de reproducción. Éstas pueden producir toxinas (bacterias del género *Clostridium*) o ser infecciosas por ellas mismas (*Salmonella*, *Listeria*, etc). Otro grupo de microorganismos son los mohos, importantes por la producción de toxinas y por su resistencia a las condiciones más extremas y finalmente, las levaduras, con las transformaciones rápidas más relevantes desde el punto de vista fermentativo (Salas *et al.*, 2005).

La vida útil de un alimento depende del número y el tipo de microorganismos, principalmente bacterias, inicialmente presentes y su posterior crecimiento (Borch *et al.*, 1996). El crecimiento y la actividad de los microorganismos responsables del deterioro dependen de la disponibilidad de los nutrientes y de los parámetros físico-químicos como el pH (Borch *et al.*, 1996; Gram *et al.*, 2002), la temperatura, la actividad de agua ( $a_w$ ) y la atmósfera (Gram *et al.*, 2002).

Entre los distintos alimentos, la carne es un producto muy perecedero debido a sus componentes biológicos (Zhou *et al.*, 2010). Concretamente, la alteración de la carne por microorganismos es mucho más rápida que la producida por sus propios enzimas (López y Casp, 2004). Así, debido a sus características de composición o riqueza en nutrientes de fácil utilización, su pH y su  $a_w$  elevada, la carne constituye un medio muy favorable para la mayor parte de las contaminaciones microbianas (Caravaca *et al.*, 2003; López y Casp, 2004; Pascual y Calderón, 2000).

La importancia de estas condiciones para la selección de la microflora del deterioro no puede ser subestimada, aunque, cada vez es más claro, que en algunas situaciones, el comportamiento interactivo entre los microorganismos determina la selección y/o el metabolismo y el posterior deterioro. El potencial de deterioro de un microorganismo es la habilidad de un cultivo puro para producir los metabolitos que están asociados con el deterioro de un producto particular (Gram *et al.*, 2002).

La vida útil de la carne y los productos cárnicos es el tiempo de almacenamiento hasta su deterioro (Borch *et al.*, 1996). El deterioro puede definirse mediante un nivel de bacterias máximo aceptable (Borch *et al.*, 1996) o cualquier cambio en el producto alimenticio como la aparición de *flavor* y aromas extraños (Borch *et al.*, 1996; Gram *et al.*, 2002), un daño físico, unos cambios químicos (oxidación, cambios de color) (Gram

*et al.*, 2002), o una apariencia (Borch *et al.*, 1996; Gram *et al.*, 2002), que lo hace inaceptable para el consumidor desde el punto de vista sensorial (Gram *et al.*, 2002).

La profundidad del músculo de un animal recién sacrificado contiene una flora muy escasa, del orden de un germen por gramo. Esta microflora procede generalmente del intestino y es transportada al músculo por la sangre. Sin embargo, la parte superficial de la carne está mucho más contaminada por una flora muy diversa (Pascual y Calderón, 2000). La contaminación de la carne comienza durante el sacrificio, continúa en otras dependencias del matadero, con otras manipulaciones posteriores y en los lugares de venta, para terminar en el hogar del consumidor (Hernández y Sastre, 1999; Pascual y Calderón, 2000). Aunque se guarden las medidas higiénicas más estrictas, no es posible impedir que los microorganismos lleguen a la carne y su contaminación es, por tanto, inevitable (Hernández y Sastre, 1999). Dentro de las distintas formas de comercialización de la carne, la picada es la que está expuesta a una alteración más posible, debido a su amplia superficie de contaminación, al estar finamente triturada y a su mayor manipulación (Pascual y Calderón, 2000). Las especies microbianas que habitualmente acompañan a la carne pertenecen a los géneros: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Chromobacterium*, *Streptomyces*, levaduras (*Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Candida*), mohos (*Sporotrichum*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Geotricum*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Monilia*, *Aspergillus*, *Thamnidium*) (Pascual y Calderón, 2000).

En el proceso de maduración de la carne se pueden producir alteraciones como consecuencia de su degradación, según sus caracteres fisicoquímicos, que son originadas por los microorganismos (Tabla 2.7) (Pascual y Calderón, 2000).

**Tabla 2.7.** Alteraciones microbianas de la carne durante su maduración (Fuente: Pascual y Calderón, 2000).

<i>Microorganismos aerobios</i>
<b>Viscosidad.</b> Aparición de una capa viscosa, acompañada de un olor desagradable, cuando la tasa de gérmenes que causan la alteración sobrepasa la cifra de $10^7$ gérmenes/cm <sup>2</sup>
<b>Decoloración.</b> Se debe a fenómenos de oxidación originados por levaduras y especies bacterianas de los géneros <i>Lactobacillus</i> y <i>Leuconostoc</i>
<b>Enmohecimiento.</b> Se debe a la presencia de flora micótica variada
<b>Decoloración verde.</b> Frecuente en carnes almacenadas a una temperatura de refrigeración comprendida entre 1 y 2 °C y baja tensión de oxígeno
<b>Lipólisis.</b> Producida por gérmenes lipolíticos pertenecientes a bacterias, levaduras y mohos
<b>Fosforescencia.</b> Se debe al crecimiento de microorganismos fosforescentes
<b>Olores y sabores anormales:</b> - Olor y sabor agrio, por la producción de ácidos volátiles, al crecer bacterias y levaduras acidificantes. - Sabor a rancio o a tierra, por crecimiento de actinomicetos. - Sabor a humedad, por crecimiento de mohos.
<i>Microorganismos anaerobios</i>
<b>Agriado.</b> Se debe a la presencia de ácidos volátiles y no volátiles, como consecuencia de: - La acción enzimática de la carne durante su maceración. - Procesos de fermentación microbiana con formación de ácidos grasos y ácido láctico. - Proteólisis microbiana cuyo origen no es la putrefacción.
<b>Putrefacción.</b> Alteración que indica descomposición anaeróbica de las proteínas con formación de compuestos de olor nauseabundo (amoníaco, ácido sulfhídrico, indol, escatol, mercaptano, etc.). Las carnes que presentan esta alteración están repletas de gas, tienen un color gris-verdoso y despiden un olor desagradable. La alteración se presenta en carnes no refrigeradas o mal refrigeradas, ya que las bacterias que la originan se inhiben a temperaturas inferiores a los 20 °C. Las carnes con pH superior a 6,2 son las más afectadas.
<b>Hueso hediondo.</b> Alteración que se caracteriza por la producción de un olor pútrido en las partes profundas de la carne, sobre todo cerca del hueso.

En la carne, además de los microorganismos propios de su alteración, se pueden encontrar gérmenes perjudiciales para la salud del hombre, procedentes de los animales enfermos o de las malas manipulaciones realizadas durante su preparación: *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*. Hay varias enfermedades humanas que se pueden transmitir por la carne: salmonelosis (*Salmonella*), brucelosis (*Brucella*), mal rojo (*Erysipelothrix rhusiopathine*), carbunco (*Bacillus anthracis*) y tularemia (*Pasteurella tularensis*) (Pascual y Calderón, 2000).

La flora microbiana que se desarrolla en la superficie de la carne a temperaturas entre 10 y 20 °C aproximadamente es muy variada, estando constituida por enterobacteriáceas, micrococos, estafilococos, *Aeromonas* y la asociación de *Pseudomonas*, *Acinetobacter*-*Moraxella*. A 20 °C el crecimiento es de un 60% de especies de *Pseudomonas*. Esta proporción disminuye a menos del 20% a 30 °C, siendo sustituida por *Acinetobacter* y *Enterobacter*. A estas temperaturas se produce en poco tiempo la descomposición de la carne, que es una alteración de los tejidos profundos producida por los microorganismos aerobios y que se manifiesta por diversas modificaciones de los caracteres organolépticos como coloraciones anormales, malos olores, cambios anormales en la textura y finalmente el desarrollo de una flora microbiana abundante con predominio de clostridios. La vida útil de la carne en aerobiosis es muy corta, no más de dos semanas, por tanto, resulta necesario frenar el crecimiento de los microorganismos para evitar que sea demasiado corta (López y Casp, 2004).

Los microorganismos son la causa más importante de la alteración de la carne fresca mantenida a temperaturas de refrigeración, tanto en atmósfera de aire como a vacío y en atmósfera modificada (Moreno, 2006).

La carne mantenida **en refrigeración y en contacto con el aire** tiene una vida útil mayor (entre 2 y 3 semanas) que a temperatura ambiente (Moreno, 2006). La vida útil de la carne refrigerada depende fundamentalmente de la tasa bacteriana original y de diversos factores, como la temperatura de almacenamiento, el pH, etc. Mientras mayor sea la temperatura de almacenamiento menor será la vida útil (Hernández y Sastre, 1999), ya que la disminución de la temperatura de refrigeración disminuye el crecimiento microbiano y además afecta a la composición de la flora bacteriana (Borch *et al.*, 1996).

Partiendo de una tasa bacteriana inicial de  $10^3$ - $10^4$  ufc/cm<sup>2</sup>, la vida útil de la carne es de unas tres semanas si la temperatura de almacenamiento es de 0 °C y se reduce a unas dos semanas si la carne se mantiene a 5 °C. Además, por encima de estos valores, la alteración es muy rápida (menos de una semana) (Hernández y Sastre, 1999). *Pseudomonas* spp. y unos pocos microorganismos psicrotrofos (aquellos que pueden multiplicarse a temperaturas de refrigeración y cuya temperatura óptima de crecimiento está en el intervalo 20-25 °C (Hernández y Sastre, 1999)) Gram negativos dominan los



alimentos proteicos almacenados aeróbicamente a bajas temperaturas (Gram *et al.*, 2002). *Pseudomonas* spp. domina en el almacenamiento aeróbico de la carne y debido a su velocidad de crecimiento alta, la vida útil de la carne es una cuestión de días (Borch *et al.*, 1996).

Además de las alteraciones producidas por los microorganismos, pueden presentarse alteraciones y modificaciones de otro tipo, pero en muchos casos, más que de alteraciones verdaderas, se trata de pérdidas o de una disminución de la calidad (Moreno, 2006). La alteración de la carne refrigerada cursa con la aparición de olores anómalos, normalmente desagradables, cuando la tasa bacteriana llega a un valor alrededor de  $5 \times 10^7$  ufc/cm<sup>2</sup> y con la aparición de sustancias viscosas cuando dicha tasa alcanza o sobrepasa el nivel de  $10^8$  ufc/cm<sup>2</sup> (Ayres, 1960). Son estos valores los que generalmente se admiten para definir una carne alterada, es decir, cuando se detectan los cambios organolépticos debidos a los metabolitos resultantes del crecimiento microbiano (Hernández y Sastre, 1999). Los aromas extraños tales como dulce, afrutado, pútrido, azufrado y queso caracterizan la carne almacenada aeróbicamente (Dainty y Mackey, 1992). Los aromas a queso están asociados con la formación de compuestos como acetoína/diacetilo y 3-metil-1-butanol, presumiblemente producidos por *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix thermosphacta* y *Lactobacillus* spp. homofermentativos (Borch y Molin, 1989; Dainty y Mackey, 1992).

La evolución de la flora microbiana en la **carne envasada a vacío** durante los primeros 15-20 primeros días es similar a la que se observa en la **carne envasada en atmósfera modificada enriquecida con dióxido de carbono** (CO<sub>2</sub>), pero después la tasa microbiana en la carne a vacío se estabiliza y no llega al nivel de  $10^8$  ufc/cm<sup>2</sup>. La composición de la flora microbiana también es algo diferente a la que prevalece en la carne envasada en atmósfera modificada (López y Casp, 2004).

En carne y pescado, un cambio en la atmósfera, por ejemplo, el envasado a vacío, inhibirá la respiración de pseudomonas y causará en carnes un cambio en la microflora hacia bacterias ácido lácticas, *Enterobacteriaceae* y algunas veces *Brochothrix thermosphacta* (Dainty y Mackey, 1992; Gram *et al.*, 2002). Los aromas extraños de la carne envasada a vacío y la envasada en atmósfera modificada anaerobia son menos ofensivos que los de la carne almacenada aeróbicamente (Borch *et al.*, 1996). En este tipo de envasado, las características del deterioro son la aparición de aromas a ácido y a

agrio y están asociados con las bacterias ácido lácticas y la producción de los ácidos acético y láctico (Dainty y Mackey, 1992).

En el envasado en **atmósfera modificada con niveles altos de oxígeno** se observa una variedad de bacterias como *B. thermosphacta*, *Pseudomonas* spp., *Leuconostoc* spp. y *Lactobacillus* spp. (Jackson *et al.*, 1992; Ordóñez *et al.*, 1991). La presencia de oxígeno incrementa el potencial de deterioro de *B. thermosphacta* y BAL, debido a la formación de productos finales como acetoína y ácido acético (Blickstad y Molin, 1984; Borch y Molin, 1988; Dainty y Hibbard, 1980).

El psicrotrófico *B. thermosphacta*, representa frecuentemente una porción significativa de la flora responsable del deterioro microbiano de la carne almacenada aeróbicamente o envasada a vacío en condiciones de refrigeración y ocasionalmente es el organismo dominante (Borch *et al.*, 1996). La glucosa es el sustrato utilizado preferentemente por *B. thermosphacta* cuando crece en carne (Gill y Newton, 1977). En condiciones aerobias, *B. thermosphacta* produce acetoína, ácido acético, isobutírico e isovalérico y 3-metilbutanol (Dainty *et al.*, 1985). El aroma extraño producido en carnes envasadas en atmósfera modificada con niveles altos de oxígeno, está caracterizado por un aroma a queso y a rancio (Borch *et al.*, 1996).

La **cocción o el cocinado** puede ser un factor de selección de la flora esporulada que, cuando se produce un enfriamiento lento, origina una proliferación considerable. A la inversa, el paso del almacenamiento en frío a la exposición a temperatura ambiente, puede dar lugar a una multiplicación excesiva de los contaminantes microbianos (Pascual y Calderón, 2000). Dada la gran diversidad de las materias primas utilizadas en la elaboración de los platos preparados, es posible el aporte de una flora indeseable muy variada, razón por la que se impone el control de cada una de ellas (Pascual y Calderón, 2000). Los platos preparados, si están mal elaborados, conservados o almacenados, pueden provocar la contaminación del alimento por microorganismos patógenos, bacterianos y fúngicos y causar toxiinfecciones alimentarias graves (Gil y Ruiz, 2010; Pascual y Calderón, 2000). Se conocen numerosos casos de enfermedades gastrointestinales de origen alimentario causadas por estos platos donde se han aislado *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* y otros (Pascual y Calderón, 2000). Estas alteraciones se dan con mayor frecuencia en los alimentos que se almacenan sin envasar y por tanto, están más

expuestos a sufrir contaminaciones bacterianas procedentes del exterior (Gil y Ruiz, 2010). La alteración de los platos preparados se manifiesta por cambios en sus caracteres organolépticos (aspecto, gusto, olor) debido, principalmente, a la acción de las bacterias psicrotróficas (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, etc.), las levaduras y los mohos (Pascual y Calderón, 2000). El pardeamiento prematuro, se observa algunas veces cuando los productos a base de carne picada, como las hamburguesas, se someten a cocción. En estos casos, el tratamiento térmico puede ser insuficiente para destruir los microorganismos patógenos y asegurar la salubridad (Ranken, 2003). Los recuentos iniciales de microorganismos aerobios mesófilos en la carne y los productos cárnicos cocinados son alrededor de  $10^2$ - $10^3$  ufc/cm<sup>2</sup> o g y consiste en una amplia variedad de especies (Blickstad *et al.*, 1981; Blickstad y Molin, 1983b; Jackson *et al.*, 1992; Mol *et al.*, 1971).

## **2.4. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN.**

### **2.4.1. Introducción.**

La necesidad de disponer de los alimentos en unas condiciones adecuadas para su consumo durante un periodo de tiempo mayor, fue el hecho que llevó a nuestros antepasados a empezar a conservarlos (Hernández y Sastre, 1999). En la actualidad, los consumidores demandamos al mercado unos productos que, siendo idénticos a los frescos, posean unas propiedades sanitarias y de mayor durabilidad, sin que disminuyan las características organolépticas del alimento en cuestión (Montero, 2003).

Los procesos de conservación de los alimentos aplicados en el ámbito de la industria alimentaria, tienen como objetivo principal evitar el deterioro de la calidad de los alimentos elaborados durante sus períodos necesarios de almacenamiento. Esta calidad, suele valorar en términos nutricionales, sensoriales y de seguridad o salud pública (Bello, 2000). La industria alimentaria realiza un conjunto de acciones y tratamientos que precisan la mayoría de los alimentos, desde su origen hasta su consumo (Cervera, 2003).

En general, los alimentos son perecederos y necesitan unas condiciones especiales de tratamiento, conservación y manipulación, ya que la acción de los microorganismos, los cambios químicos o físicos y también la contaminación con sustancias extrañas, pueden alterarlos (Cervera, 2003). En la práctica, cuando una

materia prima alimenticia más o menos perecedera no puede ser utilizada de inmediato, necesita un tratamiento adecuado para evitar el riesgo de sufrir alteraciones físicas, químicas o biológicas (Bello, 2000). Por ejemplo, la carne ha de ser considerada como uno de los alimentos más perecederos y las medidas de conservación han de aplicarse tras el sacrificio del animal, con el fin de retrasar o prevenir los cambios que hacen a este alimento inadecuado para su consumo o degradan alguna de sus características de calidad (color, *flavor*, apariencia) (Rodríguez y Simón, 2008).

La conservación de los alimentos persigue 3 principios (Gil y Ruiz, 2010):

1. Prevenir o retrasar la descomposición por microorganismos, manteniendo los alimentos libres de ellos (asepsia); eliminándolos mediante filtración, centrifugación, expurgo y lavado; obstaculizando su crecimiento y actividad enzimática por atmósferas protectoras, bajas temperaturas, desecación y conservadores químicos, o destruyéndolos mediante la aplicación de altas temperaturas, altas presiones y radiaciones.
2. Prevenir o retrasar la autodescomposición mediante la destrucción o inactivación de las enzimas por calor (escaldado) o prevenir las reacciones químicas añadiendo antioxidantes.
3. Prevenir los daños mecánicos y las lesiones causadas por los insectos y otros animales.

En la práctica, la optimización de la buena estabilidad de las materias alimenticias pasa por elegir aquella metodología que permita ejercer un riguroso control sobre la población microbiana (Bello, 2000).

En general, los métodos de conservación se dividen en dos grandes grupos, los físicos y los químicos (Figura 2.7), aunque en algunos casos es difícil establecer una clasificación, ya que el efecto resultante obtenido es el resultado de ambos tipos (Hernández y Sastre, 1999; Montero, 2003).



**Figura 2.7.** Fotografías de algunos métodos de conservación **a.** físicos como la congelación (Fuente: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2008/03/27/175691.php>) y químicos, como el **b.** curado (Fuente: <http://revista.consumer.es/web/es/20010101/actualidad/analisis1/>) y **c.** el salazón (Fuente: <http://revista.consumer.es/web/es/20010501/alimentacion/>).

#### 2.4.2. Métodos de conservación físicos.

Los métodos de conservación físicos son procedimientos que se caracterizan por conservar a los alimentos con alteraciones de los valores nutritivo y organoléptico menores que la de los químicos, aunque sea a un coste más elevado (Montero, 2003).

##### 2.4.2.1. Térmicos.

##### 2.4.2.1.1. Aplicación de frío.

Entre los métodos térmicos cabe distinguir, en primer lugar, los que se basan en la aplicación del frío, con lo que se produce una detención de los procesos químicos y enzimáticos de los alimentos (López y Casp, 2004). Hay que tener en cuenta que no existe la esterilización de los alimentos por causa del frío, ya que nunca se llega a la destrucción total de la población microbiana presente, sino solamente de un pequeño porcentaje de ella (Bello, 2000).

La vida útil de la carne depende fundamentalmente de la temperatura de conservación utilizada (López y Casp, 2004). El método más utilizado para la conservación de la carne es la aplicación de frío o la reducción de la temperatura (López y Casp, 2004; Rodríguez y Simón, 2008). Para la conservación de los alimentos (Montero, 2003) y entre ellos, de la carne (Pascual y Calderón, 2000) se utilizan dos sistemas: refrigeración y congelación (Pascual y Calderón, 2000; Montero, 2003).

a) Refrigeración (0 a 4 °C), para períodos cortos de conservación, donde sucede la reducción de los procesos internos de los alimentos y la detención del crecimiento de los microorganismos en los mismos (Montero, 2003). Hoy día, la carne fresca se refrigera en todos los casos (López y Casp, 2004). Con la refrigeración se inhibe el desarrollo de la flora microbiana en general, excepto la psicrófila y algunos mohos y levaduras (Pascual y Calderón, 2000). La disminución de la temperatura de refrigeración reduce el crecimiento bacteriano y además, afecta a la composición de la flora bacteriana (Borch *et al.*, 1996). Este método es utilizado mayoritariamente frente a la congelación (Rodríguez y Simón, 2008).

b) Congelación (-18 °C), con la reducción casi total de la actividad química y enzimática, además de impedir el crecimiento microbiano. Este último procedimiento proporciona a los alimentos períodos de conservación mayores (Montero, 2003). La congelación puede destruir algunas bacterias o inhibir el crecimiento de otras. En los casos de períodos largos de almacenamiento en frío, puede proliferar una contaminación psicrófila debida a cierta flora que, incluso, se puede desarrollar a temperaturas cercanas a los 0 °C. Durante la descongelación del producto, si es lenta, puede proliferar abundantemente la flora psicrófila que se ha mantenido inhibida cuando el alimento estaba congelado. Algunos patógenos, como las especies del género *Salmonella*, son inhibidos a la temperatura de congelación, pero sobreviven y se hacen, incluso, más resistentes (Pascual y Calderón, 2000).

#### **2.4.2.1.2. Aplicación de calor.**

El segundo grupo de métodos térmicos es aquel que se dedica a la aplicación de calor a los alimentos (Montero, 2003). Con este tipo de método se pretende la destrucción de los microorganismos (Gil y Ruiz, 2010; Montero, 2003) y la inactivación de las enzimas, además de que se conserven en el alimento los nutrientes y sus propiedades organolépticas (Montero, 2003).

La conservación de los alimentos mediante los tratamientos térmicos o la aplicación de calor son la pasteurización y la esterilización (Gil y Ruiz, 2010; Hernández y Sastre, 1999; Montero, 2003).

a) la pasteurización. La pasteurización se caracteriza por la aplicación de temperaturas suaves (inferiores a 100 °C), entre 65-70 °C y su principal objetivo es la

destrucción de los microorganismos patógenos, la reducción de otros microorganismos viables y la inactivación de las enzimas (Hernández y Sastre, 1999; Montero, 2003).

b) la esterilización. La esterilización supone la aplicación de temperaturas superiores a los 100 °C, con el objetivo de eliminar toda la actividad microbiana y enzimática (Hernández y Sastre, 1999; Montero, 2003). Estos productos no requieren refrigeración en su período de almacenamiento y poseen una durabilidad superior a seis meses (Montero, 2003).

Los alimentos pasteurizados presentan unos caracteres organolépticos y nutritivos mejores que los esterilizados debido a que los componentes están menos afectados por la temperatura, aunque el tiempo de conservación de los productos pasteurizados es inferior al de los esterilizados (Hernández y Sastre, 1999; Montero, 2003).

Sin embargo, las alteraciones del valor nutritivo y de las características organolépticas, han empujado a la tecnología de la alimentación al desarrollo de otras formas de conservación y tratamiento de los alimentos, encaminadas a reducir en lo posible este tipo de efectos no deseados (Montero, 2003). Estos procedimientos, se basan en la aplicación de altas temperaturas durante períodos de tiempo muy cortos (HTST, “high temperature short time”) favoreciendo así una menor agresividad contra los nutrientes y las propiedades sensoriales de los alimentos. Existen dos métodos muy utilizados de esterilización a altas temperaturas en periodos muy cortos de tiempo (Montero, 2003):

- UHT (aplicación de temperatura de 140-150 °C en segundos) o
- Uperización (aplicación del vapor de agua a 120-150 °C en segundos).

#### **2.4.2.2. Deshidratación.**

Consiste en la eliminación o extracción del agua del alimento (Gil y Ruiz, 2010; Montero, 2003). El agua es el factor que más contribuye individualmente al deterioro del alimento y por tanto, la reducción de su contenido prolonga la vida útil (Gil y Ruiz, 2010). Al reducir la actividad de agua ( $a_w$ ) del mismo, se inhibe a su vez el crecimiento microbiano y la actividad enzimática (Montero, 2003). Este procedimiento conlleva ciertas modificaciones en el alimento, como la pérdida de las características

organolépticas y del valor nutritivo. La deshidratación puede ser parcial, como en el caso de los concentrados líquidos, o total, como es el caso de los derivados de alimentos en polvo (leche, café instantáneo...) (Montero, 2003).

#### **2.4.2.3. Irradiación.**

Consiste en el tratamiento de los alimentos a través de radiaciones ionizantes, de las que las más empleadas son las radiaciones gamma, debido a su poder de penetración (Montero, 2003). Este método puede utilizarse para destruir microorganismos (Gil y Ruiz, 2010; Montero, 2003), parásitos e insectos (Montero, 2003), para inactivar o retardar la actividad enzimática (Gil y Ruiz, 2010; Montero, 2003) además de para reducir el contenido de agua (Gil y Ruiz, 2010) e inactivar o retardar otros procesos fisiológicos como la germinación (Montero, 2003).

#### **2.4.3. Métodos de conservación químicos.**

La mayoría de los métodos denominados químicos (entre ellos el salazón, ahumado, curado), no son estrictamente necesarios para conservar los alimentos, sino que más bien se emplean para la obtención de productos con características, sobre todo sensoriales, valoradas como tales por la demanda de los consumidores (Hernández y Sastre, 1999).

##### **2.4.3.1. Salazón.**

Es uno de los tratamientos de conservación más antiguos. Se utiliza generalmente para la conservación de los alimentos proteicos como el pescado y las carnes (Hernández y Sastre, 1999; Montero, 2003). Consiste en la adición de concentraciones elevadas de cloruro sódico (sal), que produce una disminución de la  $a_w$  y un aumento de la presión osmótica, obstaculizando el desarrollo de microorganismos e inhibiendo la actividad enzimática degradativa y la velocidad de las reacciones de modificación de los alimentos (Hernández y Sastre, 1999; Montero, 2003).

Los alimentos en salazón cambian tanto en sus propiedades nutritivas como en sus características organolépticas, aunque estas modificaciones se aprecian por ser las propias de los productos en salazón (Montero, 2003).



#### 2.4.3.2. Adición de azúcar.

Es un procedimiento similar al anterior, donde se aplican a los alimentos concentraciones de azúcar elevadas. Suele ir acompañado de un tratamiento térmico suave y se utiliza fundamentalmente para productos vegetales (mermelada de frutas) y leche (leche condensada) (Hernández y Sastre, 1999; Montero, 2003). La adición de una concentración elevada de azúcar, al igual que en el caso de la sal, disminuye la  $a_w$  y aumenta la presión osmótica de los tejidos, con lo que se impide la proliferación microbiana (Hernández y Sastre, 1999).

#### 2.4.3.3. Curado.

Este método es un derivado del salazón ya que se añade al producto una concentración alta de sal y se le adicionan sales curantes (mezclas de nitritos y nitratos potásico y sódico) (Hernández y Sastre, 1999; Montero, 2003). Este método se utiliza en los derivados cárnicos e impide el crecimiento de ciertos microorganismos patógenos como *Clostridium botulinum* (Hernández y Sastre, 1999).

#### 2.4.3.4. Fermentación.

Lo que se procura mediante la fermentación es la multiplicación de algunos microorganismos específicos y ensalzar sus actividades metabólicas. Este tipo de alimentos se continúa produciendo por la atracción de sus propiedades nutritivas y sensoriales (Bello, 2000).

#### 2.4.3.5. Aditivos.

Los **aditivos** constituyen un grupo amplio y variado de sustancias añadidas a los alimentos para mejorar las características organolépticas, alargar la vida útil de los productos y mejorar su estabilidad (Gil y Ruiz, 2010). La clasificación de los aditivos alimentarios puede hacerse siguiendo diversos criterios, aunque generalmente, se agrupan por categorías funcionales o la función que desempeñan en el alimento al que se incorporan (conservantes, aromatizantes, colorantes, etc.) (Hernández y Sastre, 1999; Rodríguez y Simón, 2008). Entre los aditivos que impiden o retardan las alteraciones químicas y biológicas hay 2 grandes grupos de sustancias: los **antioxidantes** y los **conservadores** (Hernández y Sastre, 1999).

#### 2.4.3.5.1. Antioxidantes.

Los **antioxidantes**, naturales y artificiales, son sustancias que se utilizan para conservar los alimentos porque son capaces de retrasar o prevenir la oxidación lipídica (Gil y Ruiz, 2010; Rojas y Brewer, 2007; Shahidi y Wanasundara, 1992).

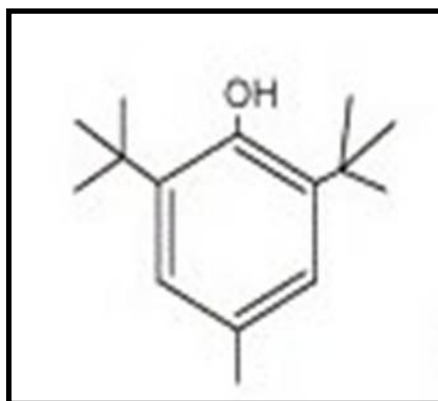
Sin embargo, no invierten ni detienen este proceso una vez que ha comenzado (Mielnik *et al.*, 2003), sino que minimizan o retrasan el deterioro del aroma, del sabor (Knipe, 1993), de la rancidez o de la decoloración (Gil y Ruiz, 2010).

Para prevenir la aparición de alteraciones en los productos cárnicos está permitido el uso de antioxidantes (Fernández *et al.*, 1997).

Atendiendo a su origen, los **antioxidantes** pueden clasificarse como **naturales** o **sintéticos** (Gil y Ruiz, 2010).

##### 2.4.3.5.1.1. Antioxidantes sintéticos.

Los **antioxidantes sintéticos primarios** son aquellos que retrasan o inhiben la etapa inicial de la oxidación, al reaccionar con un radical libre de la grasa, o inhiben la fase de propagación con los radicales peroxi o alcohoxi (Gil y Ruiz, 2010). Su uso está autorizado en la Unión Europea y son: Butilhidroxianisol (BHA) (E-320), Butilhidroxitolueno (BHT) (E-321) (Figura 2.8) y Galatos de butilo, propilo (GP) o dodecilo (E-310 a E-312) (Gil y Ruiz, 2010).



**Figura 2.8.** Dibujo de la estructura química de butilhidroxitolueno (BHT) (Fuente: Jiangning *et al.*, 2005).

Estos compuestos son muy eficaces a unas concentraciones bajas pudiendo actuar como prooxidantes en concentraciones más elevadas (Gil y Ruiz, 2010).

En general, los antioxidantes sintéticos fenólicos como BHA, BHT, butilhidroxi quinona terciaria (TBHQ) y GP, son efectivos contra la oxidación lipídica de la carne (Antony *et al.*, 2000; Ladikos y Lougovois, 1990), en los productos picados crudos y precocinados de la carne de ave de corral, de vacuno y de cerdo durante el almacenamiento (McCarthy *et al.*, 2001a, 2001b; Shahidi *et al.*, 1987; St. Angelo, 1996) así como en los productos cárnicos cocinados (Chastain *et al.*, 1982; Chen *et al.*, 1984). También, los compuestos BHA, BHT y TBHQ, inhiben el “*flavor* a sobrecalentado o recalentado” (WOF, “warmed over flavor”) (Decker y Mei, 1996).

Los **antioxidantes sinérgicos** actúan regenerando el antioxidante primario de manera que su incorporación a un alimento reduce la cantidad de antioxidante que es necesario adicionar (Gil y Ruiz, 2010). A este grupo pertenecen entre otros, los sulfitos (E-221), el palmitato de ascorbilo (E-304I) y el ácido eritórbito (E-315). También actúan como sinérgicos los ácidos cítrico (E-330) y tartárico (E-334 y E-354), los polifosfatos (E-339 a E-343) y las sales de calcio y disódica del etilendiaminotetraacetato (EDTA) (E-385), capaces de formar quelatos con elementos como el hierro o el cobre (Gil y Ruiz, 2010).

La adición de antioxidantes sintéticos como los nitritos, los fosfatos (Gray y Pearson, 1984; Igene *et al.*, 1985), el ácido cítrico y el EDTA, han sido publicados por reducir la oxidación lipídica en los productos de la carne (Güntensperger *et al.*, 1998).

Los tratamientos con fosfatos (0,3%) disminuyen el *flavor* extraño cuando se evalúan sensorialmente así como la cantidad de hexanal de carne de pavo y de vacuno picada después de 3 días de almacenamiento en refrigeración (Craig *et al.*, 1996). Las funciones de los fosfatos alcalinos son aumentar el pH, la fuerza iónica y atrapar algunos prooxidantes (Trout y Schmidt, 1984). En concreto, el tripolifosfato de sodio, se utiliza a menudo para retrasar la oxidación lipídica, como quelante de metales e inhibe el WOF y la producción de los productos de la oxidación en las carnes cocinadas (Trout y Dale, 1990; Welmeier y Regenstein, 2004).

**Trolox C**, un sólido incoloro e insípido, es la forma sintética soluble en agua de  $\alpha$ -tocoferol (Mielnik *et al.*, 2003). Experimentos con aceite vegetal y grasa animal han mostrado que Trolox C tiene una actividad antioxidante de 2 a 4 veces mayor que los

antioxidantes BHA y BHT y además, es más eficiente que  $\alpha$ -tocoferol, GP y palmitato de ascorbilo (Madhavi *et al.*, 1995).

#### **2.4.3.5.1.2. Antioxidantes naturales.**

Debido a los efectos negativos de los aditivos sintéticos sobre la salud humana (Lachman *et al.*, 2010) además de la preocupación del consumidor por su salud y los ingredientes añadidos en sus alimentos (Johnston *et al.*, 2005), hay una demanda creciente de productos naturales en la dieta humana (Lachman *et al.*, 2010), entre ellos los antioxidantes naturales (Johnston *et al.*, 2005). En concreto, los antioxidantes naturales añadidos a concentraciones que no afectan negativamente las propiedades sensoriales de los productos de la carne, son una alternativa al uso de los antioxidantes sintéticos (Antony *et al.*, 2000).

Se ha incrementado el interés por **plantas herbales naturales** que muestren una actividad antioxidante alta (Juntachote *et al.*, 2006). Varios estudios han publicado la eficacia de los componentes antioxidantes en las plantas herbales tales como los flavonoides, los compuestos fenólicos y aquellos relacionados con la prevención de la oxidación lipídica en la carne y los productos cárnicos (Ahn *et al.*, 2002; Botsoglou *et al.*, 2002; Cuvelier *et al.*, 1996; Fernández *et al.*, 2003).

Las propiedades antioxidantes del **romero** (Figura 2.9) están relacionadas principalmente con sus contenidos fenólicos, sugiriendo que sus acciones antioxidantes son similares a aquellas de los antioxidantes fenólicos sintéticos (Cuvelier *et al.*, 1996; Houlihan *et al.*, 1984; Lai *et al.*, 1991).



**Figura 2.9.** Fotografía de la planta de romero. (Fuente: <http://herbarivirtual.uib.es/cas-ub/especie/4485.html>).

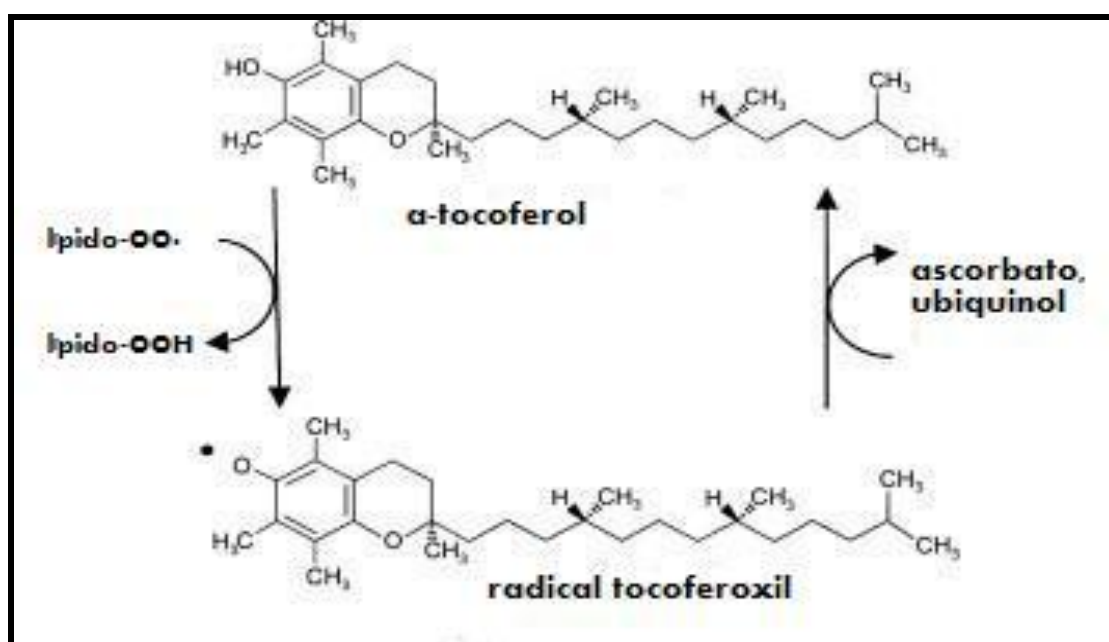
Los **extractos de romero** (*Rosmarinus officinalis* L.) tienen una actividad antioxidante potente y se utilizan ampliamente en la industria alimentaria (Georgantelis *et al.*, 2007a). Además, inhiben fuertemente la formación de los hidroperóxidos (Frankel *et al.*, 1996). El romero y los extractos de romero (a una concentración entre 0,02% y 1%) son quizá, los antioxidantes naturales más investigados y utilizados en los productos cárnicos (Ahn *et al.*, 2002; Ahn *et al.*, 2007; Han y Rhee, 2005; McCarthy *et al.*, 2001a; Nissen *et al.*, 2004; St Angelo *et al.*, 1990). Los productos antioxidantes purificados de romero están comercialmente disponibles. Aquellos recomendados para las carnes y los productos cárnicos se venden tanto en forma líquida como en polvo (Mielnik *et al.*, 2003).

Diversos materiales **vegetales** que contienen compuestos polifenólicos, son antioxidantes efectivos y pueden retardar el desarrollo de WOF en los sistemas cárnicos (Rojas y Brewer, 2007). Así, el **orégano** (añadida de 0,02% a 1%) muestra actividad antioxidante en la carne cruda (Sánchez *et al.*, 2003). El **extracto de semilla de uva** (1%), vendida comercialmente como un suplemento en las dietas, tiene potencial para reducir la oxidación lipídica y el WOF en la carne picada cocinada (Ahn *et al.*, 2007).

El **quitosano**, que es la forma diacetilada de la quitina, se ha identificado como un biopolímero versátil con un rango de aplicaciones en los alimentos (Shahidi *et al.*, 1999). Distintos autores (Darmadji e Izumimoto, 1994; Georgantelis *et al.*, 2007a) han mostrado la efectividad del tratamiento de quitosano solo o en combinación con otras sustancias como extracto de romero y  $\alpha$ -tocoferol, sobre la estabilidad oxidativa de la carne de vacuno picada y las salchichas de carne de cerdo frescas.

Las **frutas y verduras** contienen sustancias entre las que se encuentran las vitaminas liposolubles A y E,  $\beta$ -caroteno, la **vitamina C** soluble en agua y un amplio rango de moléculas anfipáticas, denominadas compuestos fenólicos (Ninfali y Bacchiocca, 2003).

La presencia o la ausencia de la **vitamina E** en los tejidos animales, influye en la estabilidad de los lípidos de las carnes durante el almacenamiento (Gray *et al.*, 1996) (Figura 2.10.a).



**Figura 2.10. a.** Esquema de la formación de un lípido hidroperóxido y un radical tocoferoxil mediante la donación de un átomo de hidrógeno de  $\alpha$ -tocoferol de la vitamina E al radical lipídico. **b.** El estado original de  $\alpha$ -tocoferol puede ser regenerado mediante una reacción de reducción con grupos hidroxilo de otros antioxidantes como vitamina C (ascorbato) o ubiquinol (Fuente: Tucker y Townsend, 2005).

Los tocoferoles son antioxidantes naturales efectivos para los alimentos que contienen lípidos (Georgantelis *et al.*, 2007a). Además,  $\alpha$ -tocoferol ha sido asociado con el retardo de la descomposición de los hidroperóxidos (Frankel, 1998) (Figura 2.10.a).

La estabilidad oxidativa de la carne se ha incrementado mediante la incorporación de  $\alpha$ -tocoferol o vitamina E como suplemento en las dietas de los animales o la adición de antioxidantes directamente en la carne (Faustman *et al.*, 1996; McMillin, 2008). Estos compuestos son antioxidantes muy potentes y se utilizan como una alternativa natural a los sintéticos como BHA y BHT (Mielnik *et al.*, 2003).

El **ácido ascórbico** o **la vitamina C** se utiliza como un antioxidante en muchos alimentos incluyendo los productos cárnicos (Mielnik *et al.*, 2003).

Cuando se utiliza junto con otros antioxidantes, el ácido ascórbico funciona de manera sinérgica para promover sus efectos antioxidantes (Chang *et al.*, 1977) (Figura 2.10.b). De hecho, varios antioxidantes naturales como  $\alpha$ -tocoferol y los extractos de hierbas han sido utilizados junto con el ácido ascórbico para prevenir la oxidación de los alimentos (Shahidi y Wanasundara, 1992). Sin embargo, dependiendo de las condiciones, el ácido ascórbico puede actuar como un antioxidante o un prooxidante (Elliott, 1999).

Algunos antioxidantes naturales, como el ácido ascórbico (E-300 a E-304) y el  $\alpha$ -tocoferol (E-307), también se obtienen por síntesis química a escala comercial (Gil y Ruiz, 2010).

La **miel** (Figura 2.11), por su dulzor, sus ventajas funcionales y su valor nutritivo, ha sido fomentada para su utilización en un amplio rango de productos alimenticios (Antony *et al.*, 2000). Algunas de sus características funcionales incluyen viscosidad, *flavor*, color, higroscopicidad, miscibilidad y untuosidad (Dawson y Mathew, 2000). Además, ha sido mostrada como un agente que minimiza reacciones de deterioro oxidativo en los alimentos (Antony *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2000).



**Figura 2.11.** Fotografía de tarros con miel (Fuente: Dra. Cristina de Lorenzo).

Los **productos de la reacción de Maillard** (Maillard Reaction Products, MRPs) comprenden un grupo de antioxidantes que pueden ser considerados naturales debido a que las reacciones ocurren de manera natural en los alimentos (Smith y Alfawaz, 1995). Estos compuestos han sido publicados por tener potencial para prevenir o retardar la reacción de oxidación en los sistemas lipídicos (Antony *et al.*, 2002). En concreto, los preparados de histidina y glucosa son inhibidores efectivos de la rancidez oxidativa en carne de ternera picada cocinada (Bailey *et al.*, 1987). Los MRPs pueden tener propiedades antioxidantes útiles para la prevención del desarrollo de WOF en la carne (Antony *et al.*, 2000).

#### **2.4.3.5.2. Conservadores.**

Los **conservadores** son sustancias que se incorporan al alimento para aumentar su estabilidad y seguridad microbiológicas (Hernández y Sastre, 1999).

Los antisépticos/conservadores prolongan la vida útil de los alimentos y las bebidas, protegiéndolos frente al deterioro causado por los microorganismos. Previenen, retardan o limitan la proliferación de los microorganismos (bacterias, levaduras, hongos y mohos) presentes en los alimentos o con los que éstos pueden contaminarse (Gil y



Ruiz, 2010). La presencia de conservadores puede ser necesaria para garantizar el mantenimiento de la calidad (características organolépticas y valor nutritivo) y de la seguridad higiénico-sanitaria de los productos elaborados (Gil y Ruiz, 2010).

Los conservadores se clasifican en función de su naturaleza química en conservadores inorgánicos y orgánicos (Hernández y Sastre, 1999).

#### **a) Inorgánicos:**

-Los **nitratos** y los **nitritos** se utilizan como antimicrobianos y como agentes del curado en la elaboración de los productos cárnicos debido a su efecto protector frente al microorganismo *Clostridium botulinum* y a su acción estabilizante del color (Hernández y Sastre, 1999). Con respecto a los nitratos, los nitritos y sus sales sódica y potásica (E-249 a E-252), puede señalarse que desde muy antiguo los nitratos y en especial el potásico (salitre), se han utilizado junto con la sal y las especias, en el curado de los derivados cárnicos. En la actualidad, está autorizado el uso de nitritos y nitratos de sodio y potasio en la conservación de los derivados cárnicos, el queso y determinados productos de la pesca (Gil y Ruiz, 2010).

-Los **sulfitos y derivados** dan lugar al anhídrido sulfuroso, que es la sustancia con acción conservante (Hernández y Sastre, 1999). El dióxido de azufre (anhídrido sulfuroso) se utiliza desde muy antiguo como conservador y desinfectante en enología. También se ha adicionado a la carne picada para evitar el crecimiento de los microorganismos al tiempo que contribuyen a mantener el color rojo de la mioglobina (Gil y Ruiz, 2010). Este uso está prohibido porque puede favorecer unas prácticas higiénicas inadecuadas y también porque los sulfitos inactivan a la tiamina (vitamina B<sub>1</sub>), a cuya aportación dietética contribuye la carne de forma significativa (Gil y Ruiz, 2010).

#### **b) Orgánicos:**

Se incluyen dentro de este grupo: ácidos orgánicos saturados (acético, propiónico, láctico), ácidos orgánicos insaturados entre los que destacan el ácido sórbico y sus sales, por tratarse de sustancias con una actividad conservadora elevada que no plantean problemas toxicológicos y por último, el ácido benzóico y sus derivados (Hernández y Sastre, 1999).

El ácido sórbico y sus sales (potásica y cálcica) (E-200 a E-203) figuran entre los conservantes más utilizados en Europa Occidental. Son especialmente eficaces frente a los mohos y las levaduras y menos contra las bacterias (Gil y Ruiz, 2010).

El ácido benzoico y sus sales (sódica, potásica y cálcica) (E-210 a E-213) son activos en medio ácido ( $\text{pH} < 5$ ) y eficaces frente a las bacterias, los mohos y en especial frente a las levaduras (Gil y Ruiz, 2010).

Los ácidos orgánicos: acético y sus sales (E-260 a E-263), láctico (E-270) y propiónico (E-280 a E-283) y sus sales, fumárico (E-297) y málico (E-296) actúan modificando el pH de los alimentos (Gil y Ruiz, 2010).

Además de los conservadores mencionados anteriormente, encontramos en la literatura científica diversas sustancias que han sido mostradas por su efecto antimicrobiano.

El compuesto **quitosano** muestra una actividad antimicrobiana *in vitro* contra los microorganismos transmitidos por los alimentos, por lo que tiene un interés como un potencial conservante alimentario natural (Darmadji y Izumimoto, 1994; Fang *et al.*, 1994; Roller y Covill, 2000; Roller *et al.*, 2002; Shahidi *et al.*, 1999; Simpson *et al.*, 1997; Sudarshan *et al.*, 1992; Wang, 1992). Varios autores han publicado que algunos de los compuestos incluidos en los **extractos de romero** poseen propiedades antibacterianas (Del Campo *et al.*, 2000; Djenane *et al.*, 2002; Fernández *et al.*, 2005).

La **miel** ha sido mostrada por su protección contra el crecimiento microbiano (Willix *et al.*, 1992). Algunas de las sustancias naturales presentes en especies de miel de diferentes plantas, pueden jugar un papel importante en las propiedades funcionales de la miel, tales como las actividades antioxidante y antibacteriana (Nagai *et al.*, 2006). Por sus propiedades antimicrobianas, la miel se podría utilizar como un conservante natural de los alimentos (Mundo *et al.*, 2004).

#### 2.4.4. Envasado.

El envasado de los alimentos (Figura 2.12) sirve para proteger los productos frente a los efectos del deterioro, contener el producto, comunicar al consumidor con una herramienta de venta y proporcionar a éstos facilidad de manejo y comodidad (McMillin, 2008; Yam *et al.*, 2005).



**Figura 2.12.** Fotografía de alimentos envasados en bandeja (Fuente: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2009/04/30/185014.php>).

La exposición de la carne en materiales plásticos permite al consumidor la evaluación del producto en un envase atractivo, higiénico y cómodo (McMillin, 2008; Renner y Labadie, 1993).

Las opciones de envasado para la carne cruda fresca son, el envasado permeable al aire, el envasado a vacío, el envasado en atmósfera modificada con un nivel bajo de oxígeno y el envasado en atmósfera modificada con un nivel alto de oxígeno (Zhou *et al.*, 2010). La modificación de la atmósfera en el interior del envase, por reducción del contenido de oxígeno, prolonga de manera significativa la vida útil de los alimentos perecederos conservados a temperaturas de refrigeración (López y Casp, 2004).

#### **2.4.4.1. Envasado a vacío.**

El envasado a vacío se basa en la eliminación del aire del alimento (Gil y Ruiz, 2010). En el envasado a vacío, la composición de la fase gaseosa cambia durante el almacenamiento. Así, la concentración de oxígeno disminuye mientras que la del dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) aumenta (Gill y Molin, 1991).

Una de las ventajas del envasado a vacío es que el crecimiento microbiano es muy limitado. Este tipo de envasado (ausencia de aire) es generalmente útil para la supresión de la mayor parte de las bacterias nocivas, incrementándose de esa forma la vida de almacenamiento del producto, pues estas bacterias precisan el oxígeno para su crecimiento normal (Ranken, 2003). Debido a la estabilización de la tasa de bacterias por debajo del nivel de  $10^8$  ufc/cm<sup>2</sup>, es difícil decidir cuándo la carne envasada a vacío

no es apta para el consumo (López y Casp, 2004). Además, las sustancias resultantes del metabolismo de las bacterias lácticas (ácido láctico, diacetilo, acetoína, etc) confieren a la carne un aroma que se denomina “vacuum packed meat odour” (aroma a carne envasada a vacío). Bajo este término, se incluyen los aromas que no son claramente desagradables y por otra parte, se disipan rápidamente al abrir el envase (López y Casp, 2004).

En cuanto a la autooxidación de las grasas, es obvio que será mínima dado que es un proceso dependiente del oxígeno (López y Casp, 2004).

En las carnes frescas, la ausencia de oxígeno causa pérdidas del color rojo característico de la carne (Ranken, 2003) siendo de color púrpura, puesto que la reducción del oxígeno, unida a la baja permeabilidad del film del envasado a este gas, provoca un cambio de color de la carne (López y Casp, 2004).

#### **2.4.4.2. Envasado en atmósfera modificada.**

El **envasado en atmósfera modificada** (Modified Atmosphere Packaging, MAP) significa la introducción inicial de una mezcla específica de gases en el envasado del alimento, sin el control posterior de la atmósfera (López y Casp, 2004). Este sistema se diferencia del almacenamiento en **atmósfera controlada**, en el que se realiza un control preciso de la composición de la atmósfera durante todo el período de almacenamiento. Este último método es más adecuado para el almacenamiento y el transporte a gran escala, como el envío de la carne a los mercados lejanos (López y Casp, 2004).

Los gases que se utilizan son, principalmente, oxígeno (O<sub>2</sub>), nitrógeno (N<sub>2</sub>) y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Hernández y Sastre, 1999). De este modo, se consigue casi duplicar la vida útil comercial de muchos productos, ya que se retrasan los fenómenos de degradación o de alteración (Bello, 2000).

Para conseguir el éxito en la conservación en atmósfera modificada, son necesarios una calidad bacteriológica de la carne adecuada y un control eficiente de la temperatura (López y Casp, 2004). MAP se aplica a los alimentos vegetales para inhibir los fenómenos de envejecimiento posrecolección y a los alimentos de origen animal (carnes, pescados y mariscos) acoplados a sistemas de refrigeración, para inhibir los microorganismos alterantes (bacterias aerobias Gram negativas) (Gil y Ruiz, 2010).

## 2.5. PLATOS PREPARADOS.

Los **platos preparados** (Figura 2.13) son preparaciones culinarias, cocinadas o precocinadas, elaboradas a partir de muy diversos productos como carnes de abasto, carne de aves, caza, pescados, moluscos, crustáceos, huevos, etc., acompañados de salsas, productos lácteos, verduras, legumbres, rellenos y otros (Pascual y Calderón, 2000).



**Figura 2.13.** Fotografías de algunos platos preparados (Fuente: <http://www.maheso.com/>, 03/04/2013).

Los **platos preparados** pueden corresponder a 3 tipos distintos de acuerdo con el tratamiento culinario recibido, que determina las manipulaciones necesarias para un consumo adecuado (Bello, 2000):

- Platos cocinados de consumo inmediato, cocinados siempre dentro del mismo día de preparación y mantenidos inmediatamente después a una temperatura de 65 °C o mayor.
- Platos cocinados, con tratamiento culinario completo, sometidos a procesos de conservación, en condiciones de ser consumidos cuando convenga, con o sin calentamiento previo.

- Platos precocinados, que por las manipulaciones recibidas, tanto culinarias como de conservación, pueden ser consumidos cuando convenga, pero siempre después de un proceso culinario adicional.

Los **platos preparados** son alimentos que se elaboran partiendo de muy diversos productos que poseen una flora específica. Por otra parte, están sometidos a numerosas manipulaciones para su preparación y su conservación (cocción, refrigeración) que influyen de manera considerable sobre la naturaleza de dicha flora (Pascual y Calderón, 2000).

Para que estos productos alcancen una calidad microbiológica buena, es necesario que (Pascual y Calderón, 2000):

- la contaminación de las materias primas sea nula o mínima.
- durante su elaboración se eviten nuevos aportes microbianos así como la proliferación de la flora presente.
- se conserven adecuadamente después de su elaboración.

Durante la elaboración del producto hay que evitar la proliferación de los gérmenes presentes, procurando que no faciliten el crecimiento microbiano. Es importante, después de la cocción, someter al alimento a un enfriamiento rápido previo a su conservación en el frigorífico. Conseguido el enfriamiento, la conservación en frío se logra con la refrigeración ( $< 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) o la congelación ( $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). En la preparación del plato, además de evitar la proliferación de la flora procedente de la materia prima, es necesario no aportar nuevos gérmenes mediante manipulaciones poco higiénicas o por la utilización de material contaminado en un ambiente sucio (Pascual y Calderón, 2000).

El RD 3484/2000 de 29 de Diciembre (BOE nº 11, 2001) estableció las Normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas, en donde se recogen las Normas Microbiológicas de las mismas (Tabla 2.8).

**Tabla 2.8.** Normas microbiológicas de comidas preparadas con tratamiento térmico (BOE nº 11, 12/01/2001).

Microorganismos	Grupo B: Comidas preparadas con tratamiento térmico
<b>Recuento total de aerobios mesófilos</b>	n= 5 m=10 <sup>4</sup> c=2 M=10 <sup>5</sup>
<b>Enterobacteriaceas (lactosa positivo)</b>	n= 5 m=10 c=2 M=10 <sup>2</sup>
<b>Testigos de falda de higiene</b>	
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	n= 5 m=10 c=1 M=10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella</i>	n= 5 c=0 Ausencia/25 g
<i>Listeria monocytogenes</i>	n= 5 c=0 Ausencia/25 g

n= número de unidades de la muestra

c= número de unidades de la muestra, cuyo número de bacterias podría situarse ente m y M. La muestra seguirá considerándose aceptable si las demás unidades tienen un número de bacterias menor o igual a m.

m= valor umbral del número de bacterias. El resultado se considerará satisfactorio si todas las unidades que componen la muestra tienen un número de bacterias igual o menor que m.

M= valor límite del número de bacterias. El resultado se considerará no satisfactorio si una o varias unidades que componen la muestra tienen un número de bacterias igual o mayor que M.

El RD 135/2010 de 12 de Febrero derogó disposiciones relativas a los criterios microbiológicos de los productos alimenticios, en concreto el anexo del RD 3484/2000 de 29 de Diciembre y está en conformidad con el Reglamento (CE) 2073/2005 de la Comisión de 15 de Noviembre, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, que recoge las normas microbiológicas de los alimentos entre ellos, los alimentos listos para su consumo (Tabla 2.9).

**Tabla 2.9.** Normas microbiológicas de alimentos listos para su consumo (DOUE 22/12/2005, L-338/1-26).

Categoría de alimentos	Microorganismos, sus toxinas y metabolitos	Plan de toma de muestras <sup>(1)</sup>		Límites <sup>(2)</sup>		Fase en la que se aplica el criterio
		n	c	m	M	
<b>1.2. Alimentos listos para el consumo que pueden favorecer el desarrollo de <i>Listeria monocytogenes</i>, que no sean destinados a los lactantes ni para usos médicos especiales</b>	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g <sup>(5)</sup>		Productos comercializados durante su vida útil
		5	0	Ausencia en 25g <sup>(7)</sup>		Antes de que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido
<b>1.6. Carne picada y preparados de carne a base de especies distintas a las aves de corral destinados a ser consumidos cocinados</b>	<i>Salmonella</i>	5	0	Ausencia en 10 g		Productos comercializados durante su vida útil

<sup>(1)</sup> n= n de unidades de la muestra; c= n de unidades de muestreo con valores superiores a m o comprendidos entre m y M.

<sup>(2)</sup> Se entenderá que m=M.

<sup>(5)</sup> Este criterio se aplica si el fabricante puede demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 ufc/g durante su vida útil. El explotador podrá fijar límites intermedios durante el proceso que deberían ser lo suficientemente bajos para garantizar que no supere el límite de 100 ufc/g al final de la vida útil.

<sup>(7)</sup> Este criterio se aplica a los productos antes de que hayan abandonado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria cuando éste no pueda demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 ufc/g durante su vida útil.

## 2.6. MÉTODOS DE MEDIDA.

### 2.6.1. Método de captura del radical DPPH•.

La actividad antioxidante de los alimentos ha sido determinada de manera segura y rápida con el método de captura del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidracil (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH•), que es un ensayo no específico y puede ser utilizado tanto para las muestras sólidas como para las líquidas (Meda *et al.*, 2005). La captura de radicales estables, como el radical cromógeno DPPH•, se cuantifica de forma espectrofotométrica a una longitud de onda de 516 nm en medio orgánico (Becker *et al.*, 2004). Este ensayo está muy aceptado porque es un método simple para evaluar la actividad de captura de radicales que involucra un equipamiento común de laboratorio (Pérez *et al.*, 2007).



### 2.6.2. Método TBARS.

A lo largo de los años se han desarrollado diferentes metodologías para determinar y cuantificar los productos de la oxidación lipídica en la carne y los productos cárnicos (Fernández *et al.*, 1997; Ross y Smith, 2006). Las técnicas analíticas más utilizadas son: el índice de peróxidos, la determinación del contenido de hexanal y la determinación del contenido de malonaldehído (malonaldehyde, MDA) (Fernández *et al.*, 1997).

El método de medida de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TBARS) es uno de los más antiguos y de uso más común para ensayar la oxidación lipídica en los alimentos (Ladikos y Lougovois, 1990; Ross y Smith, 2006). Éste consiste en la determinación espectrofotométrica del compuesto MDA extraído, un producto minoritario de la oxidación (Ross y Smith, 2006). El ensayo se basa en la reacción del ácido tiobarbitúrico (Thiobarbituric Acid, TBA) con el MDA para obtener un pigmento que presenta un pico de máxima absorción a 532-535 nm y cuya intensidad de color es una medida de la concentración de MDA (Fernández *et al.*, 1997).

Este método se puede desarrollar directamente sobre el producto o sobre el vapor destilado de los alimentos (Ross y Smith, 2006) mediante las técnicas de extracción y destilación (Fernández *et al.*, 1997).

La principal desventaja del método TBARS es que no es específico (Antolovich *et al.*, 2002; Ross y Smith, 2006), ya que otros compuestos relacionados o no con la oxidación lipídica pueden reaccionar con el TBA y de ese modo conducir a una sobreestimación de la amplitud de la oxidación lipídica (Gray y Monahan, 1992; Ross y Smith, 2006). Por esta razón, el procedimiento TBARS puede ser utilizado para ensayar la amplitud de la oxidación lipídica en general, más que para cuantificar el compuesto MDA (Ross y Smith, 2006).

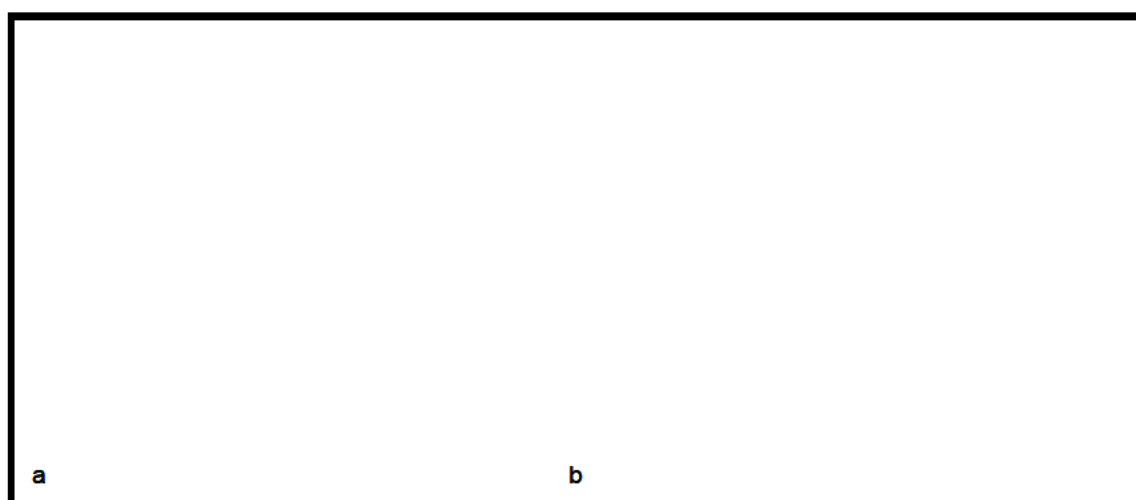
Por ser un procedimiento simple muchos estudios han confiado en esta técnica para la determinación del estado oxidativo (Ross y Smith, 2006).

### 2.6.3. Medida de componentes volátiles: Microextracción en fase sólida.

La microextracción en fase sólida (Solid-Phase Microextraction, SPME) es una técnica de muestreo en la que los procesos de extracción y preconcentración de la muestra podrían ser realizados en un simple paso. SPME fue desarrollada para llevar a cabo un método de preparación de la muestra rápido, libre de solventes y compatible con el campo (Pawliszyn *et al.*, 1997), ya que reduce la dificultad de la preparación de la muestra y por tanto, el tiempo de análisis (Balasubramanian y Panigrahi, 2011).

La extracción y la manipulación de la herramienta utilizada en SPME es simple (Balasubramanian y Panigrahi, 2011; Pawliszyn, 2002) y es similar a la manipulación de una jeringuilla (Balasubramanian y Panigrahi, 2011).

Esta técnica incluye el proceso de la extracción de los analitos (Figura 2.14.a) desde el espacio de cabeza sobre la muestra hacia una fibra de sílice fundida cubierta con un film polimérico (Ross y Smith, 2006). Después de la extracción, le sigue el proceso de la desorción de los analitos en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases (Gas Chromatograph, GC) para su análisis (Figura 2.14.b) (Arthur y Pawliszyn, 1990; Ross y Smith, 2006). En el modo de extracción del espacio de cabeza, hay dos estados de equilibrio: el primero entre la matriz de la muestra y la fase gaseosa (espacio de cabeza) que hay sobre ella y el segundo, entre el espacio de cabeza y la cubierta de la fibra de extracción (Balasubramanian y Panigrahi, 2011).



**Figura 2.14.** Esquema de los procesos de **a.** extracción y **b.** desorción en la técnica de Microextracción en Fase Sólida (Solid Phase Microextraction, SPME) (Fuente: [http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/General\\_Information/manual\\_resoluci.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/General_Information/manual_resoluci.pdf)).

En SPME, las fibras cubiertas se utilizan para aislar y concentrar los analitos en una amplia gama de materiales de revestimiento. Las barras consisten en una fibra hecha de sílice fundida que es químicamente inerte. Una capa de polímero sirve para proteger la fibra contra la rotura (Pawliszyn *et al.*, 1997). El tipo de filamento de la cubierta de SPME elegida depende del compuesto diana que se pretenda extraer (Balasubramanian y Panigrahi, 2011). Las fibras más utilizadas comúnmente se encuentran en la Tabla 2.10.

**Tabla 2.10.** Fibras más utilizadas comúnmente (Fuente: Balasubramanian y Panigrahi, 2011).

<b>Tipos de fibras</b>
100- $\mu\text{m}$ polidimetil siloxano (PDMS)
65- $\mu\text{m}$ divinilbenceno (DVB)/PDMS)
75- $\mu\text{m}$ Carboxen/PDMS.
85- $\mu\text{m}$ Poliacrilato (PA)

El rango de los analitos que puede ser analizado mediante SPME incluye volátiles, semivolátiles e incluso especies no volátiles orgánicas e inorgánicas (Pawliszyn *et al.*, 1997). Además, la polaridad del compuesto a extraer es un factor importante en la selección de la cubierta (Balasubramanian y Panigrahi, 2011).

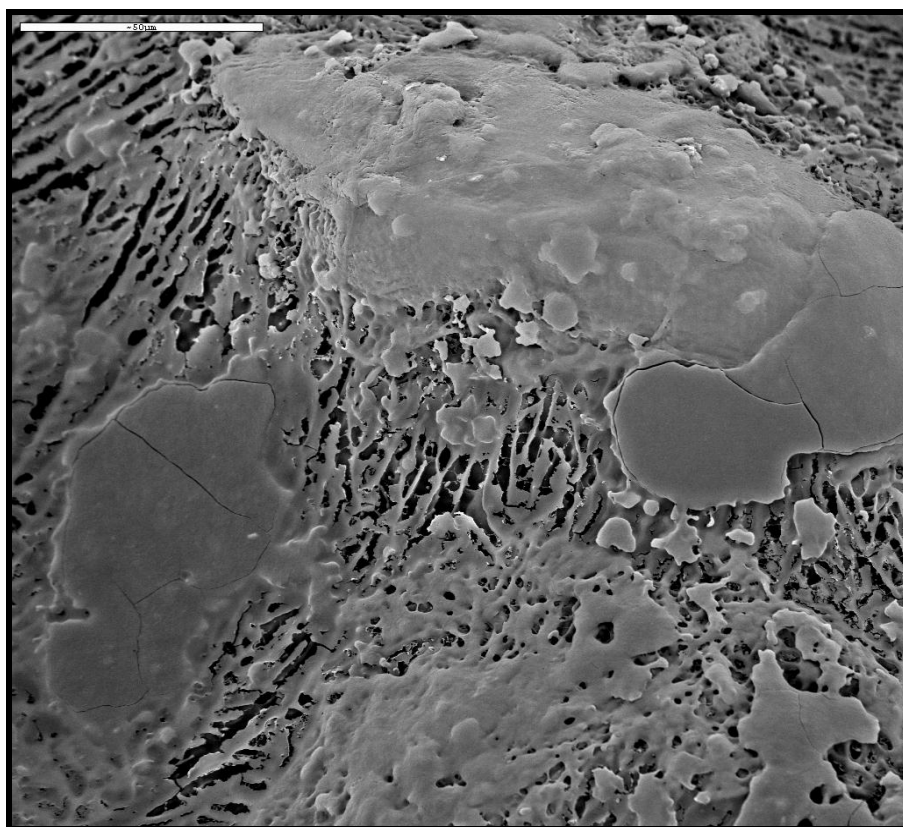
Entre las aplicaciones de esta técnica, el uso de las fibras cubiertas para extraer los compuestos volátiles trazas procedentes de la matriz de las muestras, fue utilizada primero en el sector ambiental. Los sectores alimentario y biológico han potenciado esta técnica de muestreo y están llevando a cabo búsquedas para investigar las condiciones óptimas para obtener una mejor eficiencia en el análisis de los componentes alimentarios (Balasubramanian y Panigrahi, 2011) así como en el área del *flavor* y la fragancia de la industria alimentaria (Pawliszyn *et al.*, 1997).

#### **2.6.4. Estudio estructural: microestructura de alimentos.**

Los componentes químicos de un alimento están organizados en un patrón microscópico característico que constituye su microestructura (Pérez-Munuera *et al.*, 2009).

La microestructura (Figura 2.15) nos proporciona información de una gran variedad de características de los alimentos como son la composición química y la distribución de sus componentes, las características estructurales y la presencia de

contaminantes o de microorganismos (Orrego, 2002). La información estructural es importante y necesaria para caracterizar y controlar las propiedades de los materiales alimenticios (Orrego, 2002). En alimentos vegetales y animales, las macromoléculas tales como proteínas, lípidos y polisacáridos y sus interacciones con otros componentes químicos, que incluyen el agua, desarrollan papeles funcionales importantes (Pérez-Munuera *et al.*, 2009). Estos compuestos químicos constituyen la estructura fundamental de los componentes de los que proceden las microestructuras características de cada alimento (Pérez-Munuera *et al.*, 2009).



**Figura 2.15.** Micrografía de la microestructura de falda de ternera picada mediante microscopía electrónica de barrido con un aumento de x500 (Fuente: Dra. Cristina de Lorenzo, 2012).

Los diferentes estados de los alimentos durante el procesado y el almacenamiento causan modificaciones que se manifiestan mediante cambios macroscópicos que dan las características estructura, *flavor*, color, etc., al alimento terminado. La microestructura está directamente afectada por los cambios químicos, físicos y bioquímicos que sufren los alimentos durante el procesado (Pérez-Munuera *et al.*, 2009).

Por otro lado, el desarrollo de la microscopía electrónica ha permitido que la estructura del alimento sea estudiada en mayor detalle (Pérez-Munuera *et al.*, 2009). Las diferentes técnicas microscópicas, particularmente la microscopía electrónica de barrido (scanning electronic microscopy, SEM) y de transmisión (transmission electronic microscopy, TEM) permiten observar la microestructura de los alimentos y establecer las interrelaciones con sus comportamientos físicos, químicos y bioquímicos (Pérez-Munuera *et al.*, 2009). SEM da imágenes con gran profundidad de campo, rindiendo una exposición tridimensional característica que proporciona una mayor penetración en la estructura de la superficie de una muestra biológica (Damez y Clerjon, 2008).

Por tanto, SEM es una herramienta de alto rendimiento para investigar los procesos relacionados con los cambios en la ultraestructura de la carne (Damez y Clerjon, 2008).

## 2.7. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES.

Los criterios de calidad para seleccionar e identificar los alimentos están muy relacionados con la evaluación sensorial (Martínez de Flores *et al.*, 2004).

“La evaluación sensorial es una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar aquellas características de los alimentos al ser percibidas por los sentidos”. La calidad sensorial u organoléptica, es captada por los sentidos y hace que un alimento sea apetecible o rechazable. Comprende entre otras características el olor, el color, el sabor, la textura, la sensación a la masticación y la temperatura (Martínez de Flores *et al.*, 2004).

La **vista** comprueba la apariencia, la forma, el tamaño, la densidad, el deterioro físico y el color, principalmente (Martínez de Flores *et al.*, 2004). Además, representa el 40% de la percepción sensorial en el hombre, de ahí que sea el sentido involucrado directamente en la adquisición del producto (González y de Lorenzo, 2002).

El color de las mieles puede ser desde prácticamente incoloro hasta castaño oscuro (de Lorenzo *et al.*, 2002; Pardo, 2005; Sancho *et al.*, 1999) con un amplio abanico de tonalidades intermedias (de Lorenzo *et al.*, 2002) (Figura 2.16). La tonalidad exterior de la miel es de vital importancia a la hora de su adquisición por el consumidor, teniendo las mieles de coloración clara y aspecto fluido una mayor aceptabilidad (de

Lorenzo *et al.*, 2002). Un color oscuro natural no significa que la miel sea de inferior calidad (de Lorenzo *et al.*, 2002; Mendizábal, 2005), a pesar de su menor aceptación comercial (de Lorenzo *et al.*, 2002).



**Figura 2.16.** Fotografía de la escala artificial para la evaluación de color de la miel (Fuente: de Lorenzo *et al.*, 2002).

El color de la carne no cocinada y de los productos de la carne se describe generalmente como rosa o rojo, pero el rango de colores comprende de próximo al blanco al rojo oscuro, aunque la decoloración en estos productos hace que aparezca el color café, marrón, gris, verde o amarillo (AMSA, 1991). Debido a que los colores marrones son difíciles de medir instrumentalmente, para la carne es a menudo más fácil medir la falta de rojo u otro color normal. El cocido, el curado, el ahumado y otros procesos, presentan una mejora tanto en la apariencia del producto como en la estabilidad del color, pero a menudo crean diferencias de color entre el exterior y el interior del producto (AMSA, 1991).

Después del color, el aroma y el sabor definirán la elección futura del consumidor (de Lorenzo *et al.*, 2002).

El **olfato** se estimula ante las sustancias volátiles (aromáticas) que se perciben cuando se transmiten por el aire. Los elementos primarios de los olores son la intensidad, el tipo y la variedad (Martínez de Flores *et al.*, 2004). El olfato nos ayuda a distinguir si

un alimento está descompuesto (Martínez de Flores *et al.*, 2004). En su concepto sensorial, el aroma es la propiedad organoléptica percibida por el epitelio olfatorio, zona restringida a unos pocos  $\text{cm}^2$ , que contiene unos cinco millones de neuronas olfatorias (de Lorenzo *et al.*, 2002). El requisito de volatilidad limita el peso molecular de los compuestos aromáticos, que siempre debe ser inferior a 300. Sin embargo, ciertos compuestos de peso molecular inferior pero de elevada polaridad (por ejemplo glucosa y fructosa, los componentes mayoritarios de la miel, con peso molecular de 180) no son volátiles, por lo que no presentan olor alguno (de Lorenzo *et al.*, 2002). A pesar de su sencillez química, los compuestos volátiles presentan propiedades aromáticas muy diferentes. La intensidad de un compuesto puede medirse mediante su umbral de olfacción, que es la concentración mínima necesaria (generalmente en agua o en aire) para que el compuesto pueda ser detectado por la nariz humana. Cuanto menor sea el umbral de olfacción, mayor es el poder aromático de un compuesto (de Lorenzo *et al.*, 2002).

El **gusto** se percibe básicamente en la boca, específicamente en las papilas gustativas de la lengua. La lengua es capaz de detectar los cuatro gustos básicos: dulce en la punta, amargo en la parte posterior, ácido a los lados hacia atrás y salado a los lados al frente (Martínez de Flores *et al.*, 2004).

No existe un nombre en castellano para describir la sensación conjunta sabor-olor, por lo que cada vez se recurre de manera más frecuente al anglicismo *flavor* (de Lorenzo *et al.*, 2002).

La miel es posiblemente el producto más dulce que nos da la Naturaleza. Su sabor es una mezcla de varios simples: el dulce viene dado mayoritariamente por los azúcares, el ácido causado por los ácidos (orgánicos y aminoácidos) y con un papel claro en el sabor final y otras contribuciones más ligeras de amargo y salado. Las mieles más ricas en fructosa son ligeramente más dulces que el resto (de Lorenzo *et al.*, 2002). En general, el sabor de las mieles de color claro es más suave que las de color más oscuro (Mendizábal, 2005).

Por otro lado, cientos de compuestos contribuyen al aroma y *flavor* de la carne (Calkins y Hodgen, 2007). En la carne, los compuestos del *flavor* y del aroma, pueden originarse de los componentes lipídicos y peptídicos (McMillin, 2008; Spanier, 1992).

Los aminoácidos, los péptidos y los nucleótidos generados de las proteínas, el ADN y el ARN, pueden contribuir más al sabor e interactuar con otros componentes para producir compuestos volátiles aromáticos (Shahidi, 1998). Sin embargo, las alteraciones del *flavor* normal no son raras en estos productos y resultan en una aceptabilidad pobre o incluso en el rechazo de los consumidores (Gray *et al.*, 1996).

Las características del **tacto** se clasifican en: mecánicas (relativas al esfuerzo de la masticación), geométricas (relacionadas con la forma) y otras como el contenido de humedad y de grasa (Martínez de Flores *et al.*, 2004).

Mediante el sentido del **oído**, percibimos sonidos como el crujir de una galleta, lo hueco o no de una fruta como la papaya o la sandía, que nos ayuda a determinar su grado de madurez (Martínez de Flores *et al.*, 2004). Este sentido es el único infravalorado en la apreciación cualitativa de la miel y únicamente, podría tener una significación al tratar con mieles alteradas por el proceso de la fermentación, ya que con la apertura del envase se apreciaría el sonido típico de burbujas ascendentes. En alimentos crujientes como las galletas, el chocolate o el queso su importancia es muchísimo mayor (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Existe una creciente demanda, a nivel profesional, de una evaluación organoléptica seria y eficaz por parte de un conjunto de personas. Hay, por tanto, una toma de conciencia por parte del sector alimentario de que las propiedades organolépticas son aspectos fundamentales para delimitar la aceptabilidad de un alimento por parte del consumidor (de Lorenzo *et al.*, 2002).

El **análisis hedónico** tiene como objetivo principal la obtención de una respuesta personal del consumidor sobre un producto concreto o una característica específica del mismo. En el análisis sensorial, los conceptos aceptabilidad y preferencia se miden de forma individual y atienden a acepciones diferentes aunque en ocasiones se solapen e incluso lleguen a confundirse (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Así, la aceptabilidad puede medirse como (de Lorenzo *et al.*, 2002):

- La experiencia caracterizada por una actitud positiva hacia el producto.
- La previsión de una utilización real del producto basada en estudios anteriores que garantizan un incremento en el nivel de consumo.



- El nivel de agrado de un alimento.

Mientras que el término preferencia se define como la expresión de mayor nivel de agrado y la elección de un alimento sobre otros (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Este análisis tiene como objetivo analizar el potencial de mercado y conocer la aceptación de un nuevo producto (de Lorenzo *et al.*, 2002).

Dentro del ámbito cárnico, las propiedades sensoriales de la carne son la consecuencia del proceso de maduración del tejido muscular, un fenómeno complejo considerado como el responsable principal de las cualidades organolépticas específicas que hacen de la carne un alimento comestible y apetecible. Entre las modificaciones implicadas en la conversión del músculo en carne destacan las relacionadas con los aspectos sensoriales: textura, dureza, jugosidad, color y aroma (Gil y Ruiz, 2010).



## **Capítulo 3: La actividad biológica de la miel**



### 3.1. INTRODUCCIÓN.

La miel no es únicamente una solución sobresaturada de azúcares compuesta principalmente por fructosa y glucosa (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Chirife *et al.*, 2006; Pérez, 2002; Shin y Ustunol, 2005; Terrab *et al.*, 2003; Zamora y Chirife, 2006). Contiene además otros componentes menores, en un número superior a 180 (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Chow, 2002 Gheldof *et al.*, 2002; White, 1979) como enzimas, aminoácidos y ácidos orgánicos, carotenoides, productos de la reacción de Maillard (MRPs), vitaminas, minerales, polifenoles y compuestos volátiles (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bertonecelj *et al.*, 2011; Gheldof *et al.*, 2002; Pérez, 2002; Terrab *et al.*, 2003; White, 1979). La miel ha sido utilizada por el hombre desde los primeros tiempos (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Meda *et al.*, 2005; Martín *et al.*, 2008; Vela *et al.*, 2007), como un alimento y producto medicinal (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b) para usos terapéuticos (Martín *et al.*, 2008; Vela *et al.*, 2007). Además, se ha aplicado como conservante de alimentos (Cherbuliez, 2001; Cherbuliez y Domerego, 2003), ya que varios aspectos de su uso indican que la miel también funciona como tal (Nagai *et al.*, 2006).

### 3.1.1. Propiedad antioxidante.

Los antioxidantes naturales y sintéticos tienen una larga historia como conservantes alimentarios (NHB, 2003). Éstos retardan específicamente el deterioro, la rancidez o la decoloración debido a la oxidación causada por la luz, el calor y algunos metales (Meda *et al.*, 2005).

La actividad antioxidante o la capacidad antioxidante de la miel, es la habilidad potencial de la misma de reducir las reacciones oxidativas en los sistemas alimenticios y la salud humana (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b). Estas reacciones oxidativas pueden causar reacciones deletéreas en los productos alimenticios (oxidación lipídica en la carne y el pardeamiento enzimático en las frutas y los vegetales) y efectos adversos en la salud, tales como las enfermedades crónicas y los cánceres (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Gheldof y Engeseth, 2002; Gheldof *et al.*, 2003).

Desde los años 70, investigadores de todos los campos han estudiado las propiedades químicas y biológicas de la miel, incluyendo su actividad antioxidante. Ha habido un interés en la aplicación de compuestos antioxidantes para el tratamiento médico de diferentes enfermedades causadas por estrés oxidativo (Aljadi y Kamaruddin, 2004; Beretta *et al.*, 2005; Storz y Imlay, 1999; Zheng y Wang, 2001).

Para determinar la actividad antioxidante de la miel se utilizan diferentes métodos, entre ellos la determinación de especies reactivas de oxígeno, la capacidad de captura de radicales (DPPH) (Chen *et al.*, 2000; Gheldof y Engeseth, 2002; Gheldof *et al.*, 2002; Kefalas *et al.*, 2001; Nagai *et al.*, 2001; Taormina *et al.*, 2001) y medidas enzimáticas y no enzimáticas de inhibición de la peroxidación lipídica (Chen *et al.*, 2000; McKibben y Engeseth, 2002; Nagai *et al.*, 2001).

Algunos de los componentes que aparecen de manera natural en la miel contribuyen a su capacidad antioxidante (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b). Numerosos autores han mencionado que la capacidad antioxidante de la miel puede proceder de sus distintos componentes minoritarios entre los que se incluyen aquellos de naturaleza enzimática (glucosa oxidasa o E.C. 1.1.3.4, catalasa o E.C. 1.11.1.6 y peroxidasa o E.C.1.11.1.7) como no enzimática ( $\alpha$ -tocoferol, ácido ascórbico, flavonoides, fenólicos, carotenoides, aminoácidos, MRPs y proteínas) (Aljadi y Kamaruddin, 2004; Al-Mamary *et al.*, 2002; Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Batrušaitytė *et al.*, 2007; Beretta *et al.*, 2005;

Blasa *et al.*, 2006; Crane, 1975; D'Arcy, 2005; Dimitrova *et al.*, 2007; Estevinho *et al.*, 2008; Fahey y Stephenson, 2002; Ferreres *et al.*, 1993; Frankel *et al.*, 1998; Gheldof *et al.*, 2002 y 2003; González-Paramás *et al.*, 2006; Inoue *et al.*, 2005; Ioyrish, 1974; Johnston *et al.*, 2005; Lachman *et al.*, 2010; Martos *et al.*, 2000; McKibben y Engeseth, 2002; Molan y Betts, 2004; Nagai *et al.*, 2006; Patzold y Bruckner, 2006; Pérez *et al.*, 2007; Socha *et al.*, 2011; Tomás-Barberán *et al.*, 2001; Vela *et al.*, 2007) los cuales trabajan de manera conjunta para proporcionar un efecto antioxidante sinérgico (Johnston *et al.*, 2005).

### 3.1.2. Propiedad antimicrobiana.

La miel ha sido utilizada como un ingrediente de la medicina tradicional gracias a sus propiedades alimenticias y curativas (Beretta *et al.*, 2005). Además, es un alimento consumido por el hombre en todo el mundo debido a su alto valor nutritivo y a sus efectos terapéuticos (Cabrera *et al.*, 2006).

Entre las distintas propiedades biológicas de la miel se han mencionado las actividades antibacteriana, bacteriostática, antiinflamatoria, antiviral, antiparasitaria, antimutagénica, anticancerígeno y curativa de heridas y quemaduras (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov, 1997; Cavanagh *et al.*, 1970; Church, 1954; Dustmann, 1979; Inoue *et al.*, 2005; Molan, 1998; Subrahmaniam, 1998).

La miel ofrece ventajas en el control del crecimiento bacteriano y en el tratamiento de ciertos problemas de salud (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b), como un agente antibacteriano efectivo para el tratamiento de las infecciones respiratorias, gastrointestinales, las úlceras, las heridas y las quemaduras (Andargarchew *et al.*, 2004; Molan, 1992; Molan, 2001; Subrahmaniam, 1991; Weston *et al.*, 1999).

La propiedad antimicrobiana de la miel es el resultado de una compleja operación de varios factores (Socha *et al.*, 2011) y se ha clasificado como relacionada o no relacionada con el  $H_2O_2$  (Antony *et al.*, 2006). Por tanto, esta actividad se debe principalmente a dos agentes antibacterianos (Cabrera *et al.*, 2006): aquella que tiene origen en el (i)  $H_2O_2$  resultante de peroxidasas aportadas por las abejas (Sanz y Sanz, 2004) y la enzima glucosa oxidasa (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov, 1997; Dustmann, 1979, Molan, 1992a; Molan y Russell, 1988; Weston, 2000; Weston *et al.*, 1999) y la debida a (ii) componentes distintos del  $H_2O_2$  (Cabrera *et al.*, 2006) como la

osmolaridad (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov, 1997; Dustmann, 1979; Molan, 1992a; Weston, 2000) debida a sus niveles elevados de azúcares (Osato *et al.*, 1999) y la acidez (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov, 1997; Dustmann, 1979, Mato *et al.*, 2000; Molan, 1992a) debida mayoritariamente a la presencia de ácido glucónico (Molan, 1992). Además, otros compuestos como los ácidos aromáticos (Molan, 1992; Russel *et al.*, 1988; Weston, 2000) o los componentes fenólicos (flavonoides y los ácidos benzóico y cinámico) pueden contribuir a dicha capacidad (Weston, 1999; Weston, 2000) aunque la aportación de éstos últimos en realidad, es pequeña comparada con la del  $H_2O_2$  (Weston, 2000). La capacidad de inhibir el crecimiento microbiano también se ha atribuido a la actividad de la enzima lisozima ([E.C.3.2.1.17]2) (Mohrig y Messner, 1968) y a los compuestos volátiles (Obaieki-Ebor *et al.*, 1983; Toth *et al.*, 1987; Weston *et al.*, 1999). Sin embargo, otro estudio no pudo determinar la actividad antibacteriana de la lisozima (Bogdanov, 1984).

Cuando el  $H_2O_2$  es eliminado mediante la enzima catalasa, algunas mieles todavía muestran una actividad antibacteriana significativa (Allen *et al.*, 1991; Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b) y esta actividad se refiere a la actividad antibacteriana no peroxídica (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b). Diversos autores consideran que la actividad antimicrobiana no-peroxídica es la más importante, debido a que la enzima glucosa oxidasa es inactiva en mieles maduras y el contenido de  $H_2O_2$  no es suficiente para inhibir el crecimiento bacteriano (Bogdanov, 1997; Radwan *et al.*, 1984; Roth *et al.*, 1986). Además, los componentes que incluyen la actividad no-peroxídica no son sensibles a la luz y el calor y permite largos períodos de almacenamiento de la miel (Bogdanov, 1997; Radwan *et al.*, 1984; Roth *et al.*, 1986).

La parte principal de la actividad antibacteriana no-peroxídica tendría su origen en la abeja y parte podría tenerlo en la planta (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov, 1997). El nivel de  $H_2O_2$  en una miel está determinado por los niveles relativos de las enzimas glucosa oxidasa (productora) y catalasa (eliminadora) en dicha miel (Taormina *et al.*, 2001; Weston, 2000). Es decir, a mayor nivel de glucosa oxidasa, mayor nivel de  $H_2O_2$  y a menor nivel de catalasa, también mayor nivel de  $H_2O_2$  (Taormina *et al.*, 2001). Se sabe que la glucosa oxidasa se origina en las glándulas hipofaríngeas de las abejas (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Taormina, 2001) y la enzima catalasa también actúa en la miel aunque se origina del polen (Taormina *et al.*, 2001; Weston, 2000). Por tanto, las



diferencias en la actividad antimicrobiana entre mieles procedentes de varias fuentes florales puede ser, en parte, un reflejo de estas variaciones (Taormina *et al.*, 2001).

En el estudio que se presenta, se han determinado las características físico-químicas de cinco mieles. Además, se han evaluado sus propiedades biológicas, entre ellas la antioxidante y la antibacteriana. Todo ello para la caracterización de la calidad, el origen y la actividad de dichas mieles.

### **3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **3.2.1. Muestras.**

Las muestras objeto de estudio fueron mieles artesanales procedentes de diferentes localizaciones de España, adquiridas directamente a los apicultores en sus explotaciones o en ferias y exhibiciones de apicultura y una miel adquirida en un supermercado local. Se estudiaron 5 muestras: 4 mieles artesanales de la cosecha 2005 (M12, M37, M39 y M45) y una miel de romero comercial (MR) (Hipercor) (Figura 3.1).

#### **3.2.2. Análisis físico-químicos de la miel.**

Las determinaciones espectrofotométricas de la absorbancia a distintas longitudes de onda según se indican en los apartados correspondientes, se realizaron en un espectrofotómetro ultravioleta-(UV)-visible Perkin Elmer Lambda 10 con software winlab.

##### **3.2.2.1. Medida de pH y acidez de la miel.**

Se procedió a la medida de los valores de pH y de acidez de las mieles del estudio (Figura 3.1) mediante los métodos oficiales de análisis para la miel (BOE nº 145, 1986).

La acidez libre se determinó potenciométricamente con álcali hasta pH 8,5 y la acidez láctica mediante valoración por retroceso tras la adición de exceso conocido de base. Se valoraron los reactivos NaOH (Panreac, Barcelona, España) y HCl (Panreac) para conocer su normalidad exacta utilizando como patrón el ftalato ácido de potasio (Panreac) y como indicador fenolftaleína (Panreac) al 1%. La disolución de trabajo para las determinaciones de pH y acidez fue de 10 g de miel disuelta en 75 mL de agua

destilada previamente sonicada para eliminar el CO<sub>2</sub>. Se empleó un pH-metro CRISON 2001 capaz de apreciar 0,01 unidades de pH.

Para calcular la acidez en unidades de meq/kg se utilizaron las fórmulas abajo expresadas, en donde Nb es la normalidad de la base, Na es la normalidad del ácido, P es el peso de la muestra, Vo es 0,05-0,1 mL (1 gota), Va es el volumen de HCl empleado y Vb es el volumen de NaOH utilizado.

Acidez libre (meq/kg) =  $(Vb - Vo) * Nb * 1000 / P$

Acidez láctica (meq/kg) =  $(10 * Nb - Va * Na) * 1000 / P$

Acidez total = acidez libre + acidez láctica

Las medidas de cada parámetro se realizaron por triplicado sobre 3 disoluciones tratadas de forma independiente.

#### **3.2.2.2. Contenido en humedad de la miel.**

Se procedió a la medida de humedad de las mieles del estudio (Figura 3.1) mediante los métodos oficiales de análisis para la miel (BOE nº 145, 1986).

Para su determinación se midió el índice de refracción ( $\eta$ ) a una temperatura de 20 °C con un refractómetro (Abbe WYA-15) y el resultado se relacionó con el contenido en humedad expresado en porcentaje (%) mediante la tabla de Chataway. Las medidas se realizaron por triplicado.

#### **3.2.2.3. Determinación de la conductividad eléctrica de la miel.**

Se procedió a la medida de la conductividad eléctrica de las mieles del estudio (Figura 3.1) mediante los métodos oficiales de análisis para la miel (BOE nº 145, 1986).

La conductividad eléctrica de una disolución de miel, a 20 °C, se realizó mediante un conductímetro (CRISON GLP 31. CAT-control automático de temperatura). Para las determinaciones se emplearon disoluciones al 20% p/v (5 g en 25 mL de agua destilada sonicada) (Precisa 620C, SWISS QUALITY). Peso seco = 100% - humedad. La C.E. se mide en  $\mu S/cm$ . Las medidas se realizaron por triplicado.

#### **3.2.2.4. Contenido en cenizas de la miel.**

Se procedió a la medida del contenido en cenizas de las mieles del estudio (Figura 3.1) mediante los métodos oficiales de análisis para la miel (BOE nº 145, 1986).

Se pesaron 5 g de miel en una cápsula de porcelana y se calentó en una placa calefactora (P-Selecta) para su carbonización y secado, asegurándose de que no tenían lugar pérdidas de la muestra por formación de espuma o rebosamiento. La muestra se introdujo en un horno mufla (Select-Horn P-Selecta) a 550 °C y se mantuvo hasta que el peso del residuo fue estable. Las muestras se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente para proceder a su pesada. Se determinó el porcentaje (%) de cenizas de las mieles utilizando las siguientes fórmulas:

$\text{Cenizas (\%)} = (\text{peso cenizas} / \text{peso muestra}) * 100$

$\text{Peso cenizas} = \text{peso de la cápsula con cenizas} - \text{peso de la cápsula}$

$\text{Peso muestra} = \text{peso de la cápsula con la muestra} - \text{peso de la cápsula}$ . Las medidas se realizaron por triplicado.

#### **3.2.2.5. Parámetros relacionados con la coloración de la miel.**

La legislación no señala ningún método oficial para su caracterización. Los métodos analíticos empleados fueron: determinación del contenido de polifenoles y espectrofotometría UV-visible, según procedimientos estudiados en el laboratorio de Calidad de Alimentos del Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural Agrario y Alimentario (IMIDRA).

##### **3.2.2.5.1. Determinación del contenido de polifenoles de la miel.**

Se procedió a la medida de la cantidad de polifenoles en las mieles del estudio (Figura 3.1) mediante el método de Folin-Ciocalteu. Este método está basado en el carácter reductor de los polifenoles, mediante la medida de la absorbancia a 670 nm, utilizando ácido gálico como estándar (Rentschler y Tanner, 1976).

Se preparó una disolución madre de ácido gálico (Carlo Erba, Rodano, Italia) de 1000 ppm. A partir de la disolución madre, se preparó el resto de diluciones para la recta de calibrado, de concentraciones: 100, 200, 400 y 600 ppm.

Recta patrón: a 0,5 mL de las distintas diluciones de ácido gálico se añadió 0,5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Alemania) y 10 mL de una disolución de carbonato sódico 7,5% (p/v en L) (75g/L) (Panreac) que se llevó a un volumen final de 25 mL. Se dejaron en la oscuridad durante 1 h y se midió su absorbancia. Los resultados se expresaron en ppm. Las medidas se realizaron por duplicado.

Muestras de miel: se disolvieron 2 g de miel en agua destilada y se llevaron a un volumen de 10 mL. Se tomaron alícuotas de 0,5 mL de cada muestra, se añadieron 0,5 mL de reactivo de Folin y 10 mL de carbonato sódico y se llevaron a un volumen final de 25 mL. Los matraces se dejaron en la oscuridad 1 h y se midió su absorbancia. Las medidas se realizaron por triplicado.

Tomando como referencia la recta de calibrado obtenida con las disoluciones de ácido gálico, las distintas absorbancias obtenidas fueron correlacionadas con las observadas para el ácido gálico y se obtuvieron las ppm de polifenoles de las muestras. Los resultados se expresaron en mg de ácido gálico/g de peso fresco.

#### **3.2.2.5.2. Espectrofotometría UV-visible. Medida de la absorbancia de la miel.**

Se procedió a la medida de la absorbancia de las mieles del estudio (Figura 3.1) mediante la diferencia de absorbancia de las muestras a 560 y 720 nm según Huidobro y Simal (1984). Las medidas se realizaron por triplicado.

#### **3.2.3. Medida de captura de radicales (capacidad antioxidante) de la miel.**

Se evaluó el contenido antioxidante de las mieles del estudio (Figura 3.1), mediante un método espectrofotométrico basado en la pérdida de absorbancia a 517 nm cuando un radical libre estable, el 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH•), reacciona con un antioxidante (Glavind, 1963).

Curva patrón de ácido ascórbico: se preparó una disolución del radical DPPH• (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) conservado a -35 °C en metanol (Panreac) de 90 ppm. Se prepararon diluciones de ácido ascórbico (Sigma-Aldrich) (0-0,05 mg/mL =0-50 ppm). Se partió de una disolución patrón de 500 ppm, a partir de la cual se prepararon las 10 diluciones para la recta de calibrado (Tabla 3.1). Todas las diluciones se sonicaron para facilitar la homogeneización.

**Tabla 3.1.** Recta de calibrado.

ppm ácido ascórbico (en matraces)	mL disolución patrón	Volumen final (mL)	µg ascórbico	ppm en reacción (en la curva)
0	0	25	0	0
3	1,5 (50 ppm)	25	3,75	1,36
6	3 (50 ppm)	25	7,5	2,73
10	1 (500 ppm)	50	12,5	4,54
15	1,5 (500 ppm)	50	18,75	6,81
20	1 (500 ppm)	25	25	9,09
25	2,5 (500 ppm)	50	31,25	11,36
50	2,5 (500 ppm)	25	62,5	22,73

A 1,25 mL de cada dilución de ácido ascórbico, se añadieron 1,5 mL de DPPH• y se midió su absorbancia a 517 nm.

Muestras de miel: la miel se disolvió en agua templada a concentración de 0,025 g/mL.

Se realizó un blanco de cada una de las mieles a analizar añadiendo a 1,25 mL de miel 1,5 mL de metanol. Para la reacción, 1,25 mL de la disolución de miel se mezcló con 1,5 mL de disolución de DPPH (90 ppm en metanol), se dejó reposar 5 min y se midió la absorbancia a 517 nm.

Finalmente, tomando como referencia la curva patrón del ácido ascórbico, se determinó el contenido de antioxidantes. Para determinar el porcentaje (%) de captura de radicales de las mieles, los datos se interpolaron en la curva de calibrado obtenida con las diluciones de ácido ascórbico. Las medidas para las muestras de miel se realizaron por triplicado.

#### **3.2.4. Efecto de la miel sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*: determinación de la capacidad antibacteriana no peroxídica.**

La cepa de *Staphylococcus aureus* (CECT-239, Colección Española de Cultivos Tipo, Valencia, España), liofilizada y almacenada a -86 °C, se sembró en placa de medio Baird Parker (CULTIMED, Madrid, España) suplementado con yema de huevo telurito (CULTIMED) y se mantuvo en refrigeración hasta su uso.

La determinación del efecto bacteriostático de las mieles del estudio (Figura 3.1) se llevó a cabo mediante la medida espectrofotométrica de la concentración de *Staphylococcus aureus* en una disolución de miel con catalasa (E.C.1.11.1.6) (Sigma-Aldrich) (Martín *et al.*, 2008), ensayo basado en la capacidad antibacteriana de la miel debido a sus compuestos no peroxídicos.

Preinóculo. Se inoculó *S. aureus* (CECT-239) en un tubo que contenía 3 mL de medio de crecimiento Lab-Lemco (10 g de peptona (CULTIMED), 10 g de Lab-Lemco (Oxoid, UK), 1 g glucosa (Panreac), 1 L de agua destilada) y se incubó a 37 °C durante 24 h.

Inóculo. Se sembró 1 mL del cultivo del día anterior en un matraz con 15 mL de medio Lab-Lemco y se incubó a 37 °C en agitación orbital a 150 rpm durante 2 h. Se prepararon las disoluciones de miel natural y artificial al 25% (p/v).

Miel: 10,5 g de miel+ 7,35 mL de agua milli-Q (volumen final de 15 mL).

Miel artificial: 4,2 g de fructosa (Sigma-Aldrich), 3,15 g de glucosa (Panreac), 0,84 g de maltosa (Panreac), 0,21 g de sacarosa (Sigma-Aldrich), 0,021 g de KCl (Panreac), 2,1 mL de agua acidulada (0,02 g de ácido glucónico (Sigma-Aldrich) en 20 mL de agua milli-Q) y se llevó a un volumen final de 15 mL. La miel artificial se filtró en condiciones de esterilidad a través de acetato de celulosa (0,20 µm) (SARTORIUS Minisart).

Medio de crecimiento Lab-lemco doble concentrado (Lab-Lemco\*2): se añadió catalasa almacenada a -35 °C (45,05 mg/100 mL) y se filtró.

Una vez preparadas todas las disoluciones de miel al 25% se realizaron las distintas concentraciones (Tabla 3.2).

**Tabla 3.2.** Distintas disoluciones de miel en pocillos.

Disolución (%)	Miel (mL)	Lab-Lemco*2 con catalasa (mL)	Lab-Lemco*2 (mL)
25	1,50	1,5	-----
23	1,40	1,5	0,10
19	1,15	1,5	0,35
16	1,00	1,5	0,50

Cuando la medida espectrofotométrica de la densidad óptica a 540 nm de los cultivos de *S. aureus* fue de 0,5, se inocularon los pocillos con 0,1 mL del cultivo.

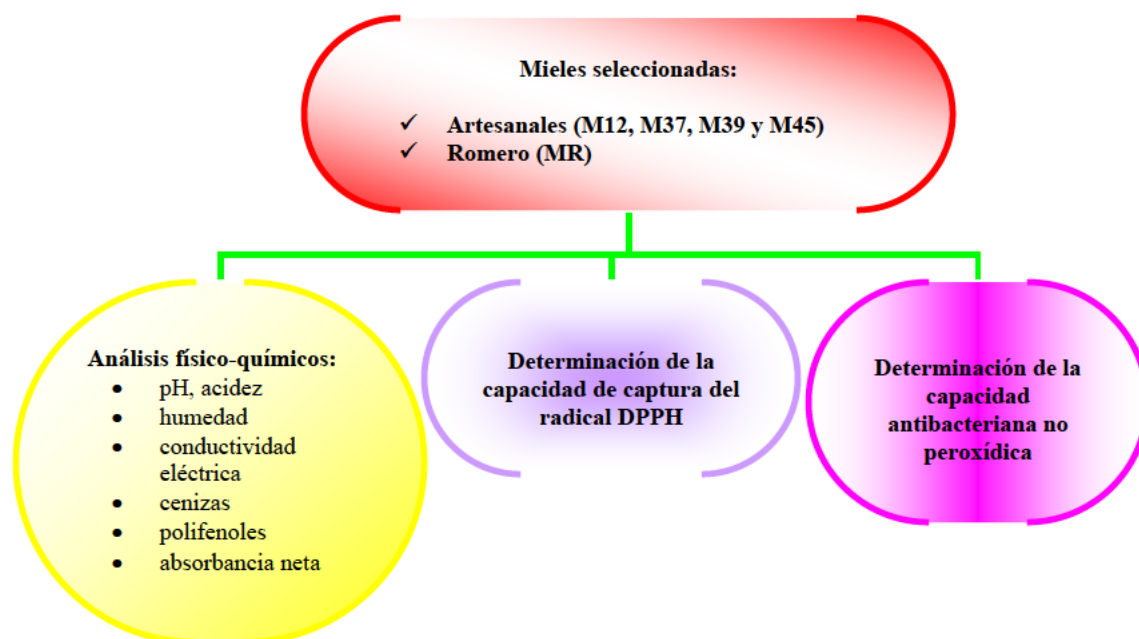
Además, se prepararon los blancos de miel artificial y color de miel natural con un volumen final de 1 mL en las mismas proporciones que en los pocillos inoculados. Los distintos blancos se sometieron a las mismas condiciones de temperatura, agitación y tiempo que los pocillos inoculados. Se midió la absorbancia a 540 nm a las 4 y 24 h de incubación a 37 °C en agitación.

El porcentaje de disminución de absorbancia (Abs) de cada miel sobre el crecimiento de *S. aureus* se calculó mediante la siguiente ecuación:

% disminución Abs =  $100 * [(Abs \text{ con disolución de miel} - Abs \text{ blanco}) * 100] / Abs \text{ del microorganismo}$

### 3.2.5. Análisis estadístico de los datos.

Para cada parámetro, las medias se compararon mediante la prueba t-Student con el programa Excel (versión 2002). Las diferencias se consideraron significativas a  $p < 0,05$ .



**Figura 3.1.** Esquema de la metodología utilizada en este capítulo.

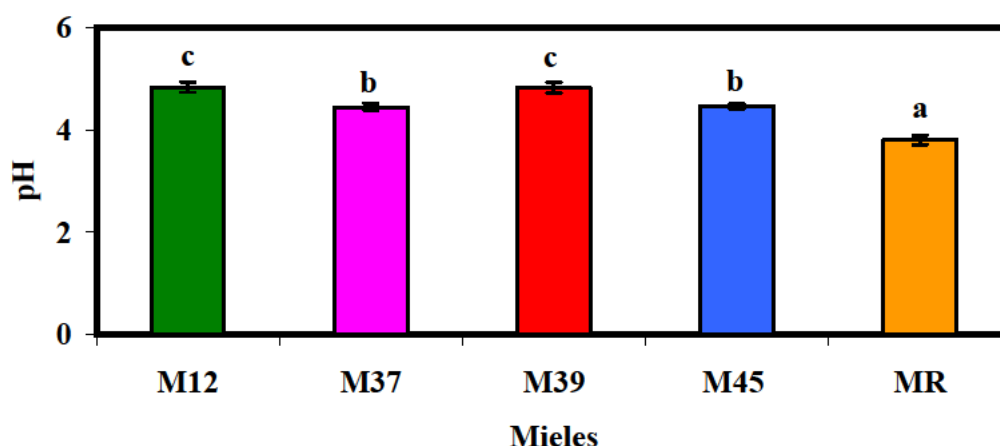
### 3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 3.3.1. Parámetros físico-químicos de las mieles.

##### 3.3.1.1. Medida de pH y acidez de las mieles.

Los valores de pH de las mieles evaluadas (M12, M37, M39, M45 y MR), se encontraron dentro de un intervalo entre 3,80 y 4,83, correspondiendo el valor menor a la miel MR y los mayores a M12 y M39 (Figura 3.2). Se han descrito valores de pH de 3,3 a 4,6 en mieles florales (Bogdanov, 2009). Además, se han atribuido valores más altos para las mieles de mielato, entre 4,5 y 6,5 (Bogdanov, 2009) y mayores que 4,3 (Mateo y Bosch, 1997).

En cuanto a los valores de la acidez libre y total de las distintas mieles, se observó que fue menor en la miel MR y mayor en M39 (Tabla 3.3). También Bentabol *et al.* (2011) observaron que las mieles de mielato mostraron unos valores medios de pH y acidez más altos que las mieles de néctar.



**Figura 3.2.** Valores de pH de las mieles artesanales (M12, M37, M39, M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 3.3.** Valores de la acidez libre y total (meq/kg) de las mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR).

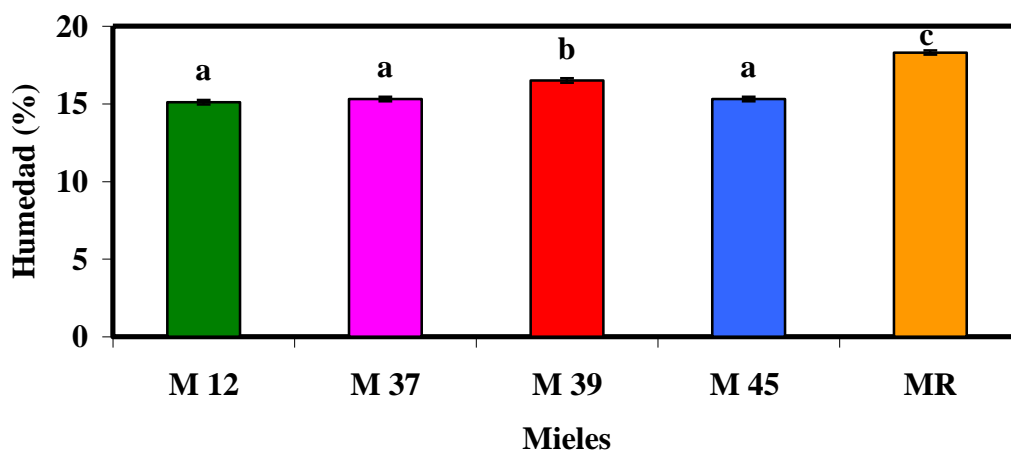
	M12	M37	M39	M45	MR
Acidez libre	45,36±3,73 <sup>c</sup>	25,09±2,02 <sup>b</sup>	81,38±1,84 <sup>d</sup>	46,40±1,13 <sup>c</sup>	12,03±0,77 <sup>a</sup>
Acidez total	55,64±2,43 <sup>c</sup>	28,34±3,31 <sup>b</sup>	83,20±2,94 <sup>d</sup>	54,23±1,53 <sup>c</sup>	16,43±0,77 <sup>a</sup>

\*Prueba t-Student. Para cada parámetro, los valores en filas seguidos con letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).



### 3.3.1.2. Humedad de las mieles.

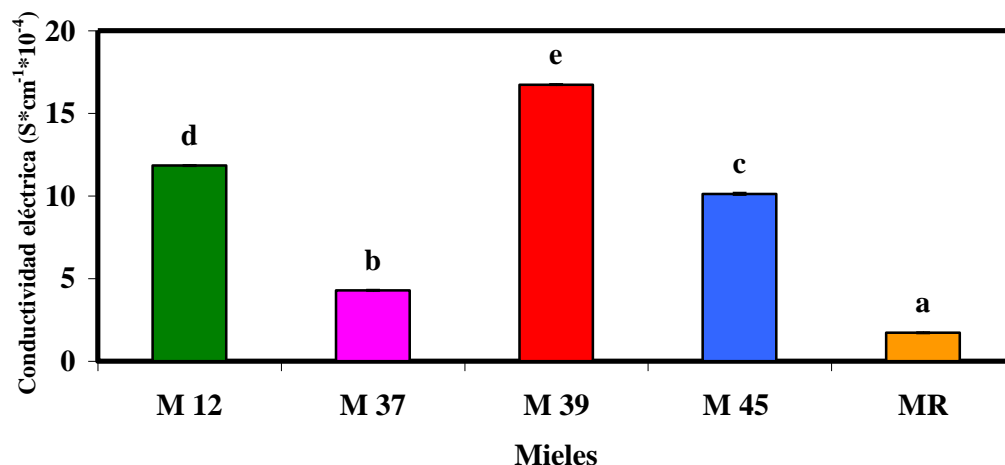
El contenido de humedad (%) medido en las distintas mieles (M12, M37, M39, M45 y MR) presentó el valor mayor en la miel MR y el menor en las mieles M12, M37 y M45 (Figura 3.3). Otros autores han publicado que la humedad está relacionada con la madurez y la frescura de la miel y no con el origen botánico o el tipo de la misma (Bentabol *et al.*, 2011).



**Figura 3.3.** Contenido en humedad (%) de las mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

### 3.3.1.3. Conductividad eléctrica de las mieles.

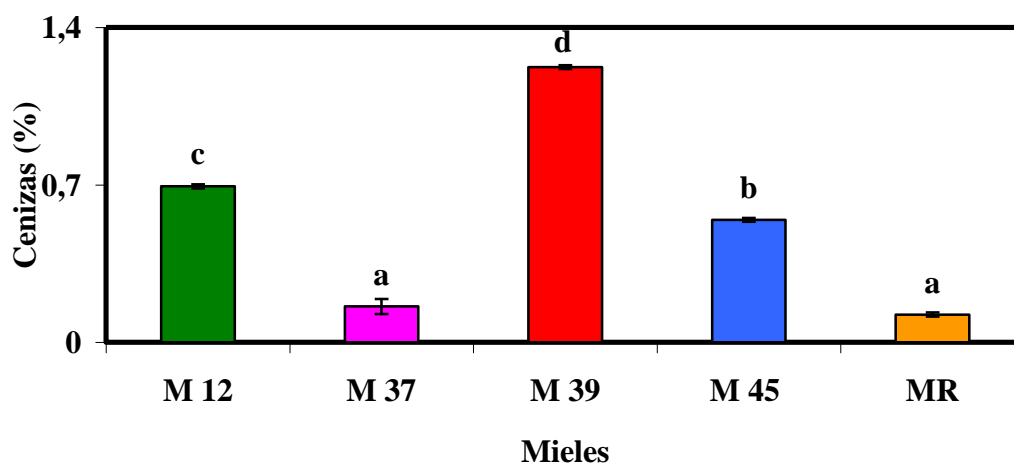
Los valores de la conductividad eléctrica ( $S \cdot cm^{-1} \cdot 10^{-4}$ ) estudiados en las distintas mieles (M12, M37, M39, M45 y MR) fueron diferentes para cada una de ellas, mostrando la miel MR el menor y M39 el mayor (Figura 3.4). Otros autores también observaron que las mieles de mielato tuvieron un valor medio de la conductividad eléctrica más alto que las mieles florales (Bentabol *et al.*, 2011).



**Figura 3.4.** Conductividad eléctrica ( $S \cdot cm^{-1} \cdot 10^{-4}$ ) de las mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 3.3.1.4. Cenizas de las mieles.

El contenido en cenizas (%) analizado en las distintas mieles (M12, M37, M39, M45 y MR), fue menor en las mieles MR y M37 y mayor en M39 (Figura 3.5). También Al *et al.* (2009) mostraron que en mieles rumanas la miel floral tenía un contenido en cenizas menor que la miel de mielato.

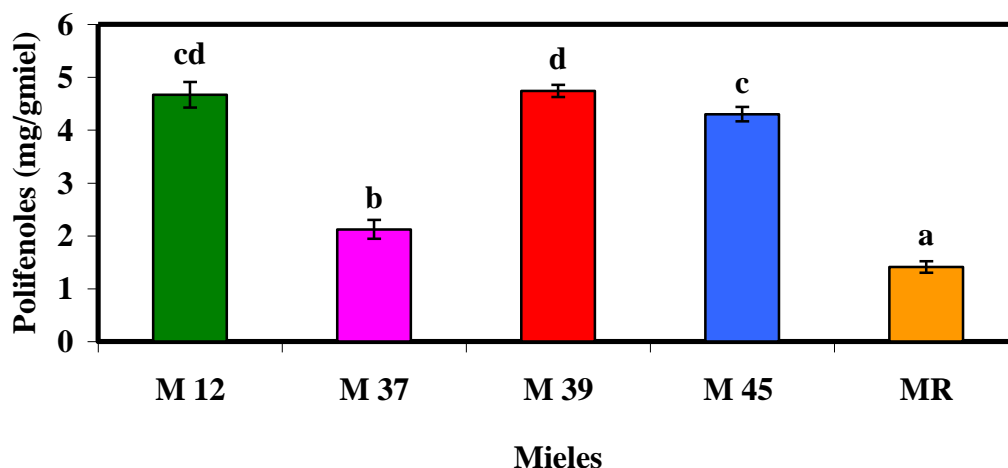


**Figura 3.5.** Contenido en cenizas (%) de mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 3.3.1.5. Contenido en polifenoles de las mieles.

El contenido en polifenoles (mg/g miel) evaluado en las distintas mieles (M12, M37, M39, M45 y MR), fue menor en la miel MR y mayor en las mieles M12 y M39

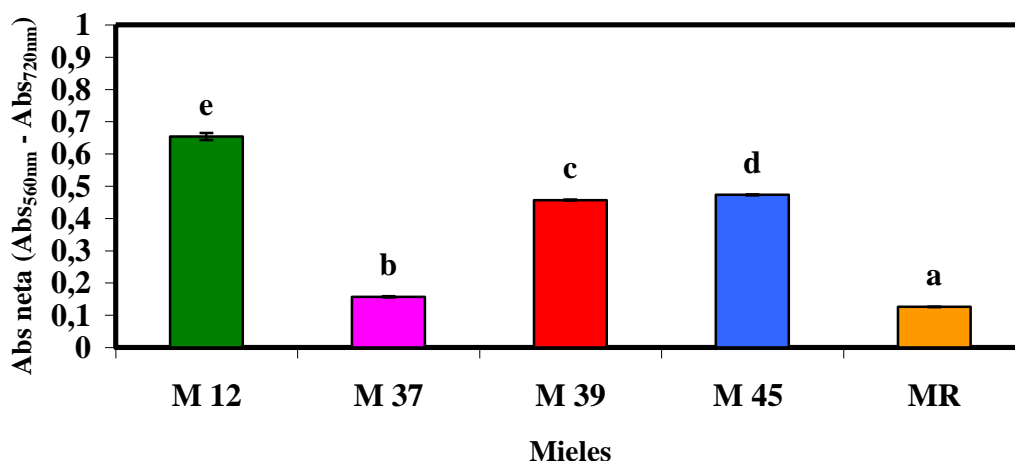
(Figura 3.6). Otros autores también observaron que el contenido polifenólico fue mayor en mieles de mielato (Al *et al.*, 2009; Lachmann *et al.*, 2010; Meda *et al.*, 2005). Además, la concentración y el tipo de sustancias fenólicas dependen del origen floral de la miel y son los principales agentes responsables de las actividades biológicas de la misma (Al-Mamary *et al.*, 2002; Küçük *et al.*, 2007; Wei y Zhirong, 2003).



**Figura 3.6.** Contenido en polifenoles (mg/gmiel) de mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

### 3.3.1.6. Absorbancia neta de las mieles.

Los valores de absorbancia neta (nm) evaluados en las distintas mieles (M12, M37, M39, M45 y MR) fueron diferentes en todas las muestras, correspondiendo el valor menor a MR y el mayor a la miel M12 (Figura 3.7). También Bentabol *et al.* (2011) observaron que las mieles de mielato analizadas fueron más oscuras que las correspondientes mieles florales.



**Figura 3.7.** Absorbancia neta ( $A_{560nm}-A_{720nm}$ ) de mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR). Prueba t-Student. Los valores con letra distinta son significativamente diferentes ( $p<0,05$ ).

Los resultados observados tanto en las figuras 3.2-3.7 como en la tabla 3.3, indicaron que aunque existieran diferencias significativas entre las muestras evaluadas en los distintos parámetros físico-químicos determinados, las 5 mieles estudiadas se podrían agrupar en cuanto a proximidad en valores de estas características.

Así, la conductividad eléctrica (Figura 3.4) y el contenido en cenizas (Figura 3.5) de las mieles del estudio, presentaron los valores más bajos en las mieles MR y M37 y los más altos en la miel M39. Feás *et al.* (2010) mostraron en mieles artesanales portuguesas una correlación lineal entre la conductividad eléctrica y el contenido en cenizas.

Además, en las mieles seleccionadas, el contenido en cenizas (Figura 3.5) fue menor en las mieles más claras o con valores de absorbancia neta más bajos (MR y M37) que en el resto (M12, M39 y M45) (Figura 3.7). También, Nozal *et al.* (2005) observaron que el porcentaje de cenizas fue más alto en mieles oscuras y mielatos que en mieles más claras.

Igualmente, los valores de la conductividad eléctrica (Figura 3.4) medidos en nuestras mieles, fueron menores en las mieles más claras (MR y M37) (Figura 3.7) que en el resto (M12, M39 y M45). Marini *et al.* (2004) mostraron una relevante correlación entre la conductividad eléctrica y el color en mieles italianas.

Por tanto, las mieles más claras o con valores de absorbancia neta menores (MR y M37) (Figura 3.7) obtuvieron valores menores tanto del contenido en cenizas (Figura

3.5) como de la conductividad eléctrica (Figura 3.4) que el resto (M12, M39 y M45). Al *et al.* (2009) observaron que normalmente hay una correlación positiva entre el color, el contenido en cenizas y la conductividad eléctrica de la miel.

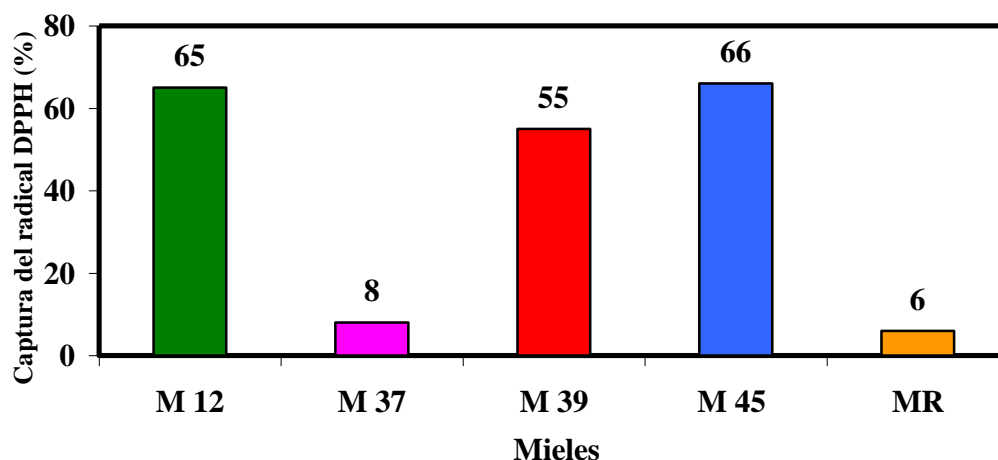
En cuanto al contenido de polifenoles (Figura 3.6) y los valores de absorbancia neta (Figura 3.7) de las mieles evaluadas, se observó que fueron menores en las mieles M37 y MR y mayores en las mieles M12, M39 y M45. Por tanto, el contenido en polifenoles de las mieles del estudio fue menor en las mieles más claras (MR y M37). También Álvarez-Suárez *et al.* (2010a) mostraron una correlación entre el color y el contenido polifenólico en mieles rumanas y Beretta *et al.* (2005) observaron que el contenido fenólico fue menor en mieles pálidas de origen monofloral.

Por tanto, entre los parámetros físico-químicos evaluados en las muestras del estudio, la miel MR mostró los valores mayores de humedad (Figura 3.3) y los menores del resto de los parámetros evaluados (pH, acidez libre, acidez total, conductividad eléctrica, contenido de polifenoles y absorbancia neta) (Figuras 3.2, 3.4-3.7, Tabla 3.3). Otros autores también han observado que la mayoría de las características físico-químicas evaluadas en las mieles españolas mostraron un alto poder discriminatorio entre las mieles de néctar o florales y las mieles de mielato, mostrando estas últimas valores mayores de pH, conductividad eléctrica, absorbancia neta, porcentaje de cenizas (González *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2007; Vela *et al.*, 2007) y contenido polifenólico (Vela *et al.*, 2007), mientras que las mieles de mezcla mostraron valores intermedios (Pérez *et al.*, 2007).

### **3.3.2. Capacidad de captura del radical (capacidad antioxidante) de las mieles.**

El porcentaje de la capacidad de captura del radical libre DPPH• evaluado en las distintas mieles (M12, M37, M39, M45 y MR), fue menor en MR y M37 y mayor en las mieles M12, M39 y M45 (Figura 3.8). Las mieles muestran un amplio rango de actividad antioxidante según su origen botánico (Vela *et al.*, 2007). También otros autores publicaron que las mieles de mielato obtuvieron un porcentaje más alto de la capacidad de captura de radicales (Lachmann *et al.*, 2010; Pérez *et al.*, 2007; Vela *et al.*, 2007) y las mieles menos activas fueron aquellas de origen monofloral (Beretta *et al.*,

2005). Según Nagai *et al.* (2006) y Socha *et al.* (2011) la miel de trigo sarraceno exhibió la actividad de captura más fuerte.



**Figura 3.8.** Captura del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•) (%) de mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR).

En cuanto a los parámetros físico-químicos contenido polifenólico (Figura 3.6), absorbancia neta (Figura 3.7) y el porcentaje de capacidad de captura del radical DPPH (Figuras 3.8) de las mieles evaluadas, se observó que mostraron grandes diferencias entre, por un lado las mieles M37 y MR y por otro, las mieles M12, M39 y M45. Así, las mieles del estudio que resultaron más claras o con absorbancia neta menor además mostraron un contenido polifenólico menor y una capacidad de captura del radical también menor. Otros autores han descrito correlaciones altas entre la actividad antioxidante de la miel y su color (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010a; Bertoncelj *et al.*, 2011; Frankel *et al.*, 1998) o contenido polifenólico (Aljadi y Kamaruddin, 2004; Al-Mamary *et al.*, 2002; Álvarez-Suárez *et al.*, 2010a; Bertoncelj *et al.*, 2011; Chang *et al.*, 2011; Lachman *et al.*, 2010; Socha *et al.*, 2011; Ulusoy *et al.*, 2010). Hay una amplia variabilidad en la efectividad antioxidante de los distintos tipos de miel, con las mieles más oscuras actuando como antioxidantes más efectivos debido a su contenido fenólico más alto (Gheldof y Engeseth, 2002; Gheldof *et al.*, 2002; Taormina *et al.*, 2001).

Por tanto, la actividad antioxidante más alta (expresada como capacidad de captura de radicales) se da en mieles de color más oscuro (Beretta *et al.*, 2005) y las variaciones en las actividades antioxidantes de las mieles son debidas a la naturaleza cuantitativa y cualitativa de sus contenidos fenólicos (Aljadi y Kamaruddin, 2004; Hirano *et al.*, 2001). La correlación obtenida entre la capacidad antioxidante y el

contenido polifenólico total sugiere que los compuestos fenólicos son, en gran parte, responsables de los efectos antioxidantes de la miel, pero hay obviamente otros factores involucrados (Pérez *et al.*, 2007). Finalmente, Pérez *et al.* (2007) y González *et al.* (2008) publicaron que la capacidad de captura del radical DPPH presentaba una correlación alta con los parámetros conductividad eléctrica, absorbancia neta, cenizas, contenido total de polifenoles, pH y acidez de diferentes mieles españolas.

Teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente, se podría postular que, de las mieles seleccionadas, las mieles M12, M45 y M39 corresponden a mielatos y las mieles, M37 y MR, corresponden a mieles florales.

### 3.3.3. Capacidad antibacteriana de las mieles.

La capacidad antibacteriana no-peroxídica (%) sobre el crecimiento del microorganismo *S. aureus* evaluada en las distintas mieles (M12, M37, M39, M45 y MR), mostró que los porcentajes de disminución de absorbancia del cultivo del microorganismo, fueron menores en la miel artificial (MA) y la miel MR frente a las mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) a tiempo 4 h de exposición para todos los porcentajes del estudio (Tabla 3.4). Lo mismo ocurrió a las 24 h de exposición para los porcentajes 25 y 23 (Tabla 3.4). Sin embargo, a las 24 h de exposición, las mieles no tuvieron gran actividad biológica y, por lo tanto, se observó menor efecto inhibitorio de este microorganismo obteniendo los valores menores la miel MR a las concentraciones del 16 y 19% (Tabla 3.4). Además, a este tiempo, se observó en las mieles seleccionadas (M12, M37, M39, M45 y MR) que el efecto antibacteriano era mayor a las concentraciones superiores al 20% (Tabla 3.4).

El efecto antibacteriano de la miel disminuye con el tiempo y las distintas especies bacterianas difieren en su susceptibilidad a la misma (Badawy *et al.*, 2004). Ulusoy *et al.* (2010) observaron que *Escherichia coli* fue moderadamente sensible a los extractos fenólicos de mieles turcas procedentes de diferentes fuentes florales. Cabrera *et al.* (2006) publicaron que las muestras de miel tratadas con solución de catalasa tanto diluida como no diluida, mostraron una actividad antibacteriana no peroxídica de tipo bacteriostático contra las bacterias seleccionadas (*Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* y *Proteus mirabilis*). Taormina *et al.* (2001)

observaron que los componentes peroxídicos y no peroxídicos de la miel afectaban al crecimiento de 6 patógenos alimentarios.

Otros autores como Mundo *et al.* (2004) observaron que las muestras de mieles fueron capaces de inhibir el crecimiento microbiano de microorganismos responsables del deterioro y patógenos de los alimentos, por lo que la miel podría ser considerada para su uso como un conservante alimentario bajo unas condiciones apropiadas. La miel inhibe el crecimiento de los microorganismos asociados a las infecciones o a las enfermedades (Molan, 1992a, b). Además, se ha demostrado su efectividad *in vitro* contra infecciones causadas por bacterias como *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella enterica* Ser. Typhimurium (Cooper *et al.*, 2002; Willix *et al.*, 1992).

**Tabla 3.4.** Porcentaje (%) de disminución de absorbancia del cultivo de *Staphylococcus aureus* en presencia de distintas concentraciones (16, 19, 23 y 25%) de miel artificial (MA), mieles artesanales (M12, M37, M39 y M45) y miel de romero (MR) a las 4 y 24 h de incubación a 37 °C.

4 horas		Concentración de miel (%)			
Muestra	25	23	19	16	
MA	62,28±13,66 <sup>aB</sup>	56,98±14,66 <sup>aAB</sup>	45,79±15,07 <sup>aAB</sup>	37,68±13,90 <sup>aA</sup>	
M12	91,64±2,93 <sup>bA</sup>	94,03±0,58 <sup>bA</sup>	89,65±3,37 <sup>bcdA</sup>	84,98±3,99 <sup>deA</sup>	
M37	92,01±3,52 <sup>bBC</sup>	91,66±1,03 <sup>bC</sup>	84,09±0,26 <sup>bB</sup>	73,52±1,23 <sup>bdA</sup>	
M39	97,38±0,75 <sup>bC</sup>	90,49±2,48 <sup>bABC</sup>	86,90±0,34 <sup>cB</sup>	83,08±0,76 <sup>ceA</sup>	
M45	97,24±2,60 <sup>bAB</sup>	96,95±1,97 <sup>bB</sup>	93,97±2,19 <sup>dAB</sup>	88,16±1,99 <sup>eA</sup>	
MR	73,72±1,55 <sup>aC</sup>	70,34±4,50 <sup>aBC</sup>	55,40±2,35 <sup>aB</sup>	45,01±0,31 <sup>acA</sup>	
24 horas		Concentración de miel (%)			
Muestra	25	23	19	16	
MA	29,33±14,99 <sup>aB</sup>	23,19±11,27 <sup>aAB</sup>	13,16±3,75 <sup>bAB</sup>	9,63±4,62 <sup>bcA</sup>	
M12	80,59±3,15 <sup>cD</sup>	75,72±2,21 <sup>dC</sup>	13,68±1,90 <sup>bB</sup>	3,68±0,32 <sup>bA</sup>	
M37	80,61±1,11 <sup>cD</sup>	67,50±2,99 <sup>cC</sup>	19,19±3,83 <sup>bcB</sup>	5,87±2,07 <sup>bcA</sup>	
M39	62,83±0,66 <sup>bD</sup>	50,38±1,64 <sup>bC</sup>	14,04±1,00 <sup>bB</sup>	6,97±2,87 <sup>bcA</sup>	
M45	89,05±0,25 <sup>dD</sup>	84,72±0,32 <sup>eC</sup>	22,16±0,02 <sup>cB</sup>	9,12±0,50 <sup>cA</sup>	
MR	27,94±1,41 <sup>aB</sup>	28,61±2,60 <sup>aB</sup>	1,58±1,47 <sup>aA</sup>	0,61±0,13 <sup>aA</sup>	

\*Prueba t-Student. Para cada tiempo de incubación, los valores seguidos con letras distintas en filas (letras mayúsculas) y en columnas (letras minúsculas) son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).



## **Capítulo 4: Empleo de miel artesanal sobre la conservación de falda de ternera picada almacenada en refrigeración**



#### 4.1. INTRODUCCIÓN.

La carne es la parte muscular comestible de los animales de abasto, sacrificados y faenados en condiciones higiénicas, en la que se incluyen las porciones de grasa, hueso, cartílago, piel, tendones, aponeurosis, nervios y vasos linfáticos y sanguíneos que normalmente acompañan al tejido muscular y que no se separan de éste en los procesos de manipulación, preparación y transformación de la carne (Pascual y Calderón, 2000).

La vida útil de la carne en aerobiosis es muy corta, no más de dos semanas, por tanto, resulta necesario frenar el crecimiento de los microorganismos para evitar que sea demasiado corta (López y Casp, 2004). La vida útil de los productos perecederos, como es la carne, conservados en atmósfera normal, está limitada principalmente por dos factores: el efecto del oxígeno atmosférico y el crecimiento de microorganismos aerobios productores de alteraciones. Estos factores, de forma individual o asociados con otros, producen cambios de olor, sabor, color y textura, conduciendo a un deterioro general de la calidad (Zhou *et al.*, 2010).

El (i) color, el (ii) crecimiento microbiano y la (iii) oxidación lipídica son factores importantes para la vida útil y la aceptación del consumidor de la carne fresca

(Jakobsen y Bertelsen, 2000). Además, son los criterios de calidad más importantes para la conservación de la carne roja fresca (Esmer *et al.*, 2011).

El color es un atributo de calidad que influye en la aceptación del consumidor de la carne y los productos cárnicos (Carpenter *et al.*, 2001; Glitsch, 2000) y por tanto, afecta a su decisión de compra (Kropf, 1980; Suman *et al.*, 2010), ya que prefieren la carne de vacuno de color rojo brillante en lugar de color púrpura o marrón (Carpenter *et al.*, 2001). El color rojo brillante de la carne es percibido por los consumidores como un indicador de sanidad (Faustman *et al.*, 1989; Suman *et al.*, 2010), frescura y calidad (Faustman *et al.*, 1989). Sin embargo, el color de la carne fresca tiene una vida corta, debido a que su decoloración es inevitable durante el almacenamiento en presencia de oxígeno (Zhu y Brewer, 1998).

Durante la conservación de la carne a temperaturas bajas en presencia de aire, el deterioro de ésta es principalmente el resultado de la actividad de bacterias Gram negativas, psicrotrofos y cepas aerobias dominadas por *Pseudomonas* spp. (Rodríguez *et al.*, 2005). Así, *Pseudomonas* spp. predomina en la flora de la carne en el almacenamiento aeróbico y, debido a su velocidad de crecimiento alta, acorta la vida útil de la carne a unos días (Gill y Molin, 1991). Otros microorganismos como *Brochothrix thermosphacta*, bacterias ácido lácticas y *Enterobacteriaceae* tolerantes al frío, son capaces de multiplicarse pero, por lo general, representan una pequeña proporción de la flora total (Dainty y Mackey, 1992; García *et al.*, 1998).

La oxidación lipídica normalmente no se considera un factor limitante para la vida útil de la carne envasada en aire y almacenada en frío, ya que esta reacción ocurre a una velocidad más lenta que la decoloración o el crecimiento microbiano (Zhao *et al.*, 1994). Este proceso también se da durante el almacenamiento, aunque generalmente no es el determinante principal de la vida útil en sistemas de envasado envueltos con films permeables al aire (Martínez *et al.*, 2006). En la carne de cerdo, a causa del contenido de ácidos grasos insaturados relativamente alto, ésta se oxida más rápidamente que la carne de ternera o la carne de cordero (Pearson *et al.*, 1977). Los productos de la carne de ave de corral fresca y procesada también son muy susceptibles al deterioro oxidativo por su proporción alta de ácidos grasos poliinsaturados (Higgins *et al.*, 1998). La oxidación de estos ácidos grasos no sólo causa un desarrollo rápido de la rancidez de la

carne, sino que también afecta al color, a la calidad nutricional y a la textura de la carne de vacuno (Kanner, 1994).

Se entiende por carne picada el producto constituido por carne magra de vacuno o de ovino o de porcino, debidamente picada, que no ha sufrido ni la acción del calor, ni la maduración, ni la maceración (BOE nº 18, 1986). La carne picada llega a enranciarse más rápidamente que cualquier músculo intacto o cortado que se vende al por menor (Ho *et al.*, 1996; Mitsumoto *et al.*, 2005) ya que el proceso de picado expone más la superficie del músculo al aire y a la contaminación microbiana (Mitsumoto *et al.*, 2005).

La miel se ha utilizado tradicionalmente como agente endulzante (McKibben y Engeseth, 2002). Además, ha sido demostrada su capacidad de conservación en la minimización de reacciones de deterioro oxidativo en alimentos (Antony *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2000) y la protección contra el crecimiento microbiano (Willix *et al.*, 1992). La miel contiene flavonoides, ácido ascórbico, tocoferoles, catalasa, compuestos fenólicos y productos de la reacción de Maillard, los cuales trabajan juntos para proporcionar un efecto antioxidante sinérgico (Johnston *et al.*, 2005). En productos cárnicos tales como jamón, bacon y salchichas, la miel puede ayudar a unir ingredientes y es un sustrato en productos curados (Dawson y Mathew, 2000).

Por todo ello, en este capítulo, se ha estudiado el posible efecto beneficioso (antioxidante y antimicrobiano) del empleo de distintas mieles sobre la vida útil de falda de ternera picada envasada en aire o aerobiosis y almacenada a 4 °C.

## **4.2. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **4.2.1. Muestras.**

Falda de ternera picada (músculo *Cutaneous trunci*) se obtuvo en un supermercado.

Las distintas mieles utilizadas fueron mieles artesanales (M12, M37 y M45) y miel de romero (MR). Las mieles de mielato (M12 y M45), así como las mieles florales (M37 y MR), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], se añadieron a falda de ternera picada en un 19% peso/peso (p/p) (Figura 4.1). Las muestras se envasaron en aire en bolsas de plástico de 20/80 µm (Rilthene L) y se almacenaron a 4 °C durante 6 días (Figura 4.1). Las muestras se analizaron a tiempos 0, 3 y 6 días.

#### **4.2.2. Preparación de miel en polvo o deshidratada.**

Para una adecuada manipulación y homogeneización de la miel con la carne, se utilizó miel en forma deshidratada. Se realizaron distintas mezclas de miel con varios soportes sólidos naturales (FAO, 1996): harina fina de maíz (Maizena), harina de trigo (Huerto San Genaro) y sémola de trigo (NOMEN). Las mezclas se introdujeron en un desecador y se sometieron a vacío (bomba de vacío BÜCHI). A continuación, se desagregaron en un mortero de porcelana y se obtuvieron las mieles deshidratadas. Finalmente, se almacenaron en frascos de vidrio en un desecador para evitar su apelmazamiento.

Se obtuvieron las siguientes proporciones (% miel: % harina de trigo): M12 (70: 30), M37 (60: 40), M45 (60: 40) y MR (50: 50).

#### **4.2.3. Determinación del porcentaje de grasa de falda de ternera picada.**

Se realizó la extracción de grasa de falda de ternera picada a tiempo 0 días utilizando la técnica de Hanson y Olley (1963) con una modificación de Bligh y Dyer (1959) (Díaz, 2004). Dicha técnica está basada en el tratamiento con una mezcla de dos solventes, cloroformo (solubiliza los lípidos) y metanol (rompe los enlaces proteicos) y finalmente, en un lavado con agua salina que elimina las sustancias no lipídicas solubles en la mezcla. La sal disminuye la disociación de los ácidos lipídicos y de esta forma no se disocia la fase solvente (cloroformo). Además, la presencia del agua salina, unida al metanol, permite separar la fase clorofórmica (fase inferior) de la fase metanólica (fase superior).

Se pesaron 25 g de carne picada y se le añadió una punta de espátula de BHT (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), metanol (Panreac, Barcelona, España), cloroformo (Panreac) y agua salina (NaCl) (Panreac) siendo la relación cloroformo/metanol/agua 1/2/0,8 (v/v/v). La muestra se homogeneizó (Ultraturrax Heidolph DIAX 900) durante 2 min en un baño de hielo. Posteriormente, se añadieron cloroformo y agua destilada salina, siendo la relación cloroformo/metanol/agua de 2/2/1,8 (v/v/v) y se homogeneizó durante 30 s. Se centrifugaron los tubos a 2000 rpm, durante 30 s y a 0 °C (Centrífuga BECKMAN COULTER) formando tres fases: fase superior (agua y metanol), fase intermedia con sedimentos sólidos y fase inferior con grasa disuelta en cloroformo. Se eliminó la fase superior y se recogió la inferior, que se filtró mediante papel Whatman

n° 42 cubierto con una punta de espátula de sulfato sódico anhidro (Panreac), lavando dicho filtro con cloroformo/metanol en proporción 2/1 (v/v) y 0,05% de BHT. La grasa se concentró en un evaporador rotatorio (BÜCHI R-114), con baño de agua a 35-40 °C (BÜCHI B-480). Para asegurar la evaporación total de los solventes se llevaron los tubos a un concentrador (LIEBISCH LABORTECHNIK) a 35-40 °C. Las muestras (en tubos herméticos con tapón de rosca y junta de teflón) se pasaron por una corriente de N<sub>2</sub> para obtener condiciones anaerobias para su conservación.

Los resultados se expresaron en porcentaje (%) de grasa (Instituto de Salud Pública de Chile Subdepartamento Laboratorios del Ambiente. Sección Química de Alimentos, [http://www.ispch.cl/lab\\_amb/met\\_analitico/doc/ambiente%20pdf/Grasa\\_BlighyDyer.pdf](http://www.ispch.cl/lab_amb/met_analitico/doc/ambiente%20pdf/Grasa_BlighyDyer.pdf)) mediante la ecuación abajo indicada, donde A es la concentración de grasa expresada en g grasa /100g carne o % de grasa, P<sub>1</sub> es el peso de la muestra, P<sub>2</sub> es el peso de la grasa seca obtenida, V<sub>T</sub> es el volumen total de cloroformo (40 mL) y V<sub>a</sub> es el volumen de la alícuota de cloroformo tomada (25 mL).

$$A \text{ (g/100g)} = (V_T \times P_2) / (V_a \times P_1)$$

#### **4.2.4. Análisis físico-químicos de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración.**

##### **4.2.4.1. Medida de los valores de pH de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de pH (pHmetro CRISON GLP 21) de las distintas muestras (Figura 4.1). Los análisis se realizaron por triplicado.

##### **4.2.4.2. Medida de la actividad de agua de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración.**

Se midió la actividad de agua (a<sub>w</sub>) (Hygrolab 3 ROTRONIC) de las distintas muestras (Figura 4.1). Los análisis se realizaron por triplicado.

##### **4.2.4.3. Medida del color de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los parámetros de color L\* (luminosidad), a\* (tendencia al rojo) y b\* (tendencia al amarillo) (Spectrophotometer CM-2600 d, Konica Minolta, acoplado a

software Spectra Magic NX) de las distintas muestras (Figura 4.1) estableciendo al 2° observador 10°.

Además, se obtuvieron el índice de saturación (Chroma o  $C^*$ ) y el tono (Hue o  $H^*$ ) (AMSA, 1991; Díaz *et al.*, 2002) mediante las ecuaciones: Chroma, ( $C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$ ) y Hue ( $H^* = \tan^{-1} (b^*/a^*) * 57,29$ ). Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **4.2.5. Medida de la oxidación lipídica de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en las distintas muestras (Figura 4.1).

Se realizó el método TBARS modificado de Botsoglou *et al.* (1994), basado en la reacción entre el malonaldehído (MDA) y el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) que da lugar a un compuesto de color rosa que se mide a 532 nm.

Se preparó la solución de TBA (Sigma, St. Louis, USA) al 0,6%, que se calentó a 45 °C durante 10 min y posteriormente se refrigeró. Se prepararon las soluciones de ácido tricloroacético (TCA) (Merck, Darmstadt, Alemania) al 25% y 5% (p/v). La solución stock a partir de la cual se obtuvo la solución madre para la curva de calibrado, se preparó a partir de 112 µL de 1,1,3,3,-tetraetoxipropano (TEP) (Sigma) y 10 mL de HCl 0,1 N en un volumen de 100 mL. Se calentó durante 10 min a 100 °C y se refrigeró posteriormente. El TEP se hidroliza a MDA en medio ácido. La solución madre se obtuvo diluyendo 766 µL de la solución stock con agua milli-Q en un volumen final de 250 mL (dilución 1:1 ng de MDA/µL).

Para la recta de calibrado se prepararon 11 tubos con solución madre de 0 a 2500 µL, obteniéndose de 0 a 2,50 µg de MDA: 0µL (0µg), 100µL (0,10µg), 200µL (0,20µg), 400µL (0,40µg), 600µL (0,60µg), 800µL (0,80µg), 1000µL (1,00µg), 1250µL (1,25µg), 1500µL (1,50µg), 2000µL (2,00µg), 2500µL (2,50µg). A los tubos se les añadió 1 mL de TCA al 5% y 1,5 mL de TBA al 0,6% y se completaron hasta un volumen final de 5 mL.

Se tomaron 2,5 g de ternera picada que se homogeneizaron (Ultraturrax, Heidolph DIAX 900) con 20 mL de agua ultra pura durante 30 s a 13000 rpm. A continuación, se añadieron 5 mL de TCA 25%, se agitaron y dejaron en reposo 15 min a



4 °C. El extracto se centrifugó (BECKMAN COULTER) a 10000 rpm durante 15 min a 4 °C, filtrando el sobrenadante sobre papel Whatman N° 52. Seguidamente, se añadieron 1,5 mL de TBA al 0,6% a 3,5 mL de filtrado en cada tubo, se agitaron e incubaron a 70 °C (Tembloc, P-selecta) durante 30 min y se refrigeraron. Finalmente, se determinó su absorbancia en espectrofotómetro (UV-Vis Perkin Erlenmeyer Lambda 10 con software WINLAB) a 532 nm frente a un blanco que contenía agua milli-Q, TCA 5% y TBA 0,6%.

La concentración de MDA (mg MDA/kg muestra) se determinó mediante los siguientes cálculos, donde Abs es la absorbancia de las muestras, 2,5 es el peso de la muestra, 25 es el volumen utilizado en la disolución de nuestra muestra para la extracción de los compuestos de interés y 3,5 mL es el volumen final filtrado utilizado para la reacción.

Concentración (mg MDA/kg muestra)= (Abs/2,5)\*(25/3,5). Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **4.2.6. Análisis microbiológico de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración.**

Se cuantificó el número de ufc/g muestra de microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y bacterias ácido lácticas (BAL) mediante recuentos en placa Petri (Pascual y Calderón, 2000) de las distintas muestras (Figura 4.1).

Se introdujeron 10 g de muestra en una bolsa de stomacher con 90 mL de agua de peptona (10 g de peptona (CULTIMED, Madrid, España) + 5 mL de NaCl (Panreac) por L de agua destilada) y se homogeneizaron (STOMACHER 400 CIRCULATOR) durante 1 min. Se realizaron diluciones decimales seriadas, agitando los tubos durante unos s (agitador Heidolph).

Se realizó el método de siembra en masa, utilizando el medio de cultivo PCA (Plate Count Agar, CULTIMED) para los AM y MRS (Man, Rogosa y Sharpe, CULTIMED) para las BAL. En el caso de las BAL las placas se introdujeron en una jarra de anaerobiosis con un generador de anaerobiosis (Oxoid, UK) y un indicador de O<sub>2</sub>. Por último, las placas se incubaron en estufa (P-selecta) a 31 °C durante 72 h.

Los resultados se expresaron en log ufc/g muestra. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **4.2.7. Análisis de compuestos volátiles de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración.**

Se analizaron los compuestos volátiles en el espacio de cabeza de las distintas muestras (Figura 4.1). Para ello se utilizó la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) acoplada a un cromatógrafo de gases y espectrómetro de masas (Pérez *et al.*, 2008).

Se utilizó un equipo de cromatografía de gases (Hewlett-Packard 6890) equipado con un detector de espectrometría de masas (HP 5973). Se pesaron 4 g de carne picada, que se introdujeron en viales de 8 mL con septum perforado de politetrafluoroetilenosilicona (PTFE/silicona). La fibra de SPME estaba cubierta con 75 µm de carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS) (Sigma Aldrich-Supelco, Madrid, España).

Se realizaron ensayos a 37 °C con un preequilibrado durante 30 min seguido de una exposición de la fibra al espacio de cabeza de la muestra de 60 min. La extracción de los volátiles se realizó a una temperatura de la columna de 250 °C durante 3 min. El tiempo de carrera fue de 52 min.

Las identidades de la mayoría de los componentes fueron confirmadas mediante la comparación de sus índices de retención y espectro de masas con aquellos obtenidos de los estándares. Cuando los estándares puros no estaban disponibles, los compuestos fueron identificados tentativamente mediante el Programa de Búsqueda de Espectro de Masas (National Institute of Standards and Technology. NIST; Gaithersburg, MD). Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **4.2.8. Estudio estructural de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración.**

Se realizó un estudio estructural de las distintas muestras (Figura 4.1), mediante criomicroscopía de barrido (Crio-SEM), bien en observación superficial o bien tras criofractura controlada del material para observar su interior. Se perseguía la

observación de las características más relevantes de la distribución de la miel en la matriz de carne picada y su efecto sobre los microorganismos.

Para ello, se congelaron las muestras en N<sub>2</sub> líquido bajo condiciones de vacío, se depositó oro coloidal para hacer las muestras conductoras y se observaron con un microscopio electrónico (Zeiss Scanning Electron Microscope). La observación se realizó a -90 °C, con electrones secundarios o retrodispersados para una optimización de la imagen.

Las muestras de ternera picada (control) se analizaron a tiempos 0 y 21 días y aquellas con miel a 0 días.

#### **4.2.9. Análisis estadístico.**

Para cada parámetro las medias fueron comparadas mediante la prueba t-Student con el programa de Excel (versión 2002). Las diferencias fueron consideradas significativas para  $p < 0,05$ .

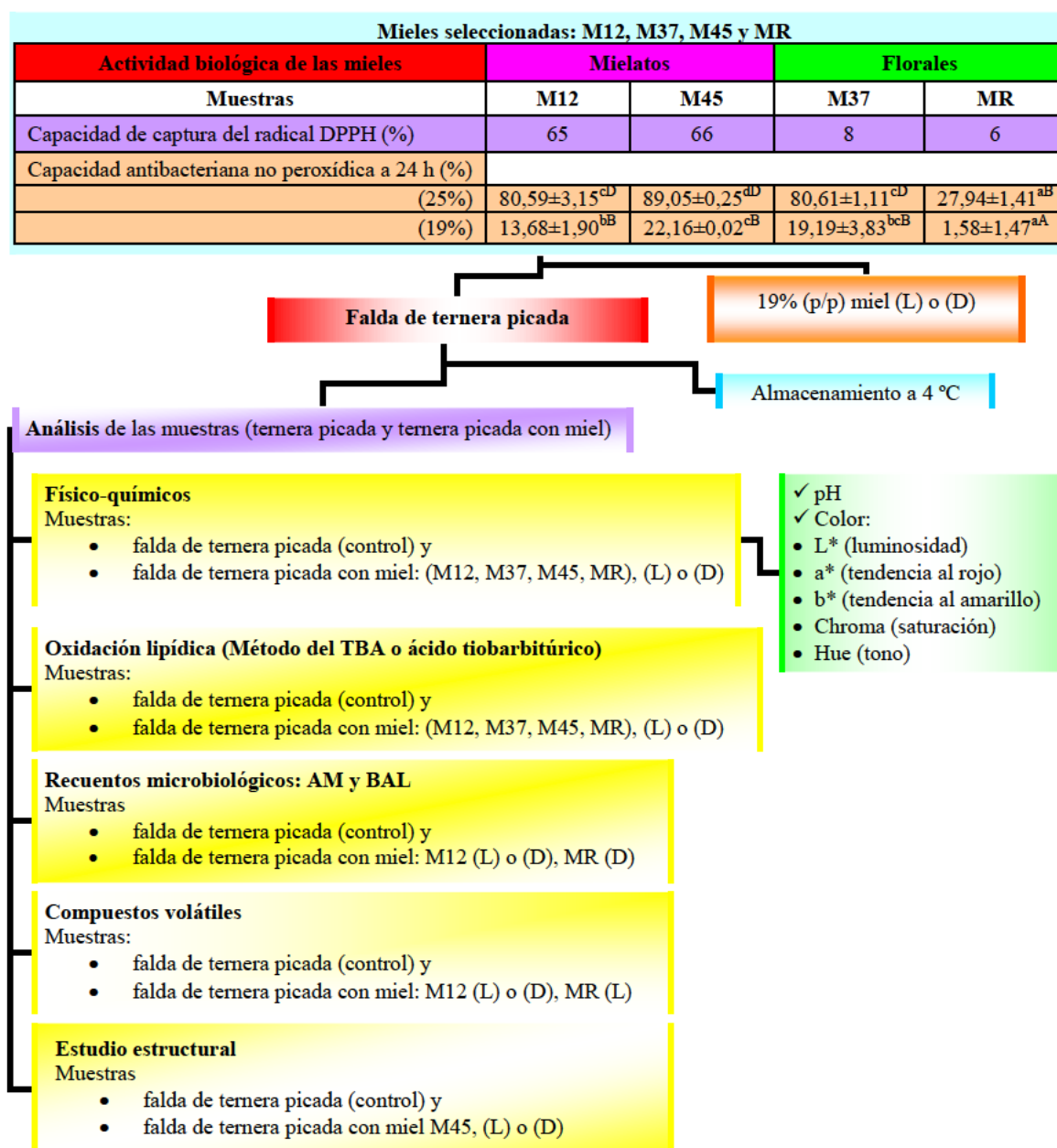


Figura 4.1. Esquema de la metodología utilizada en este capítulo.

### 4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 4.3.1. Análisis del porcentaje de grasas.

El porcentaje medio de grasa de los lotes de falda de ternera picada utilizados en los ensayos fue de un  $17,96 \pm 1,25\%$ . El porcentaje de grasa en la muestra del estudio es análogo al mencionado por Ranken (2003) para piezas típicas de carne de vacuno, similar a otras partes como el pecho (18%) y mayor que otras piezas típicas de vacuno

como redondo (5%) y pescuezo (8%). Este contenido abundante en grasa también fue observado mediante el estudio estructural (apartado 4.3.6, Figura 4.6.A).

#### **4.3.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración.**

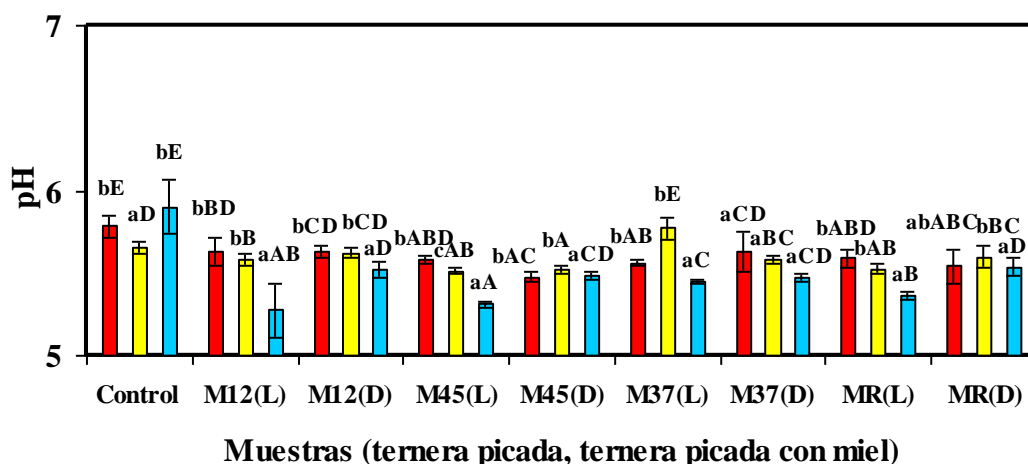
##### **4.3.2.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el valor de pH de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración.**

Los valores de pH evaluados en las distintas muestras con un 19% (p/p) de miel (M12, M37, M45 y MR), fueron a 0 días menores que los de ternera picada (control), debido al propio pH de la miel en forma líquida (3,80-4,83) (capítulo 3, apartado 3.3.1) (Figura 4.2). Johnston *et al.* (2005) también observaron que, a 0 días, el empleo de un 15% (p/p) de miel de trébol disminuía el valor de pH de la carne de vacuno.

Los valores de pH de cada una de las muestras con miel del estudio disminuyeron con el tiempo de almacenamiento (Figura 4.2). Georgantelis *et al.* (2007a) también observaron una disminución del valor de pH durante el tiempo de conservación a 4 °C en salchichas de cerdo frescas, así como con distintas sustancias con carácter antioxidante añadidas (romero, quitosano y tocoferol). Papadima *et al.* (1999) atribuyeron la disminución del valor de pH a los carbohidratos contenidos en ingredientes comunes de salchichas tradicionales griegas, que podrían ser utilizados como sustratos por las bacterias ácido lácticas, resultando en la producción de ácidos orgánicos. Por tanto, la disminución de los valores de pH con el tiempo de almacenamiento en las muestras con miel evaluadas podría deberse al crecimiento bacteriano ya que diversos autores (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Pérez, 2002; Shin y Ustunol, 2005; Terrab *et al.*, 2003) mencionan que la miel está compuesta principalmente por fructosa (38%) y glucosa (31%). Sin embargo, en otros estudios de conservación con el empleo de diversas sustancias, otros autores como Suman *et al.* (2010) no observaron un efecto del tiempo de almacenamiento sobre los valores de pH de carne de vacuno picada con quitosano.

Finalmente, los valores de pH en las muestras con miel fueron menores que los del control para cada tiempo del estudio (Figura 4.2). Por el contrario, Suman *et al.*

(2010) observaron que el empleo de sustancias con carácter antioxidante como quitosano aumentaron los valores de pH en ternera picada.



**Figura 4.2.** Efecto del empleo de un 19% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45) y mieles florales (M37 y MR), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de pH de falda de ternera picada envasada en aire (control) y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3 y (■) 6 días de almacenamiento. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.2.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la actividad de agua de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración.

Los valores de la actividad de agua ( $a_w$ ) evaluados en las muestras de ternera picada (control) y en aquellas con un 19% (p/p) de miel (M12, M37, M45 y MR), estuvieron en el intervalo 0,83-0,94 (Tabla 4.1).

En general, la adición de miel no mostró un efecto importante sobre los valores de  $a_w$  de ternera picada (control), ni a 0 días ni durante los 6 días de almacenamiento a 4 °C (Tabla 4.1) aunque la media del valor de la  $a_w$  de la miel varía, según Antony *et al.* (2006) entre 0,5 y 0,6. Otros autores observaron que las diferencias en los valores de la  $a_w$  causadas por la adición de miel de trébol y miel de flores silvestres a día 0 no fueron una causa suficiente para controlar el crecimiento microbiano en carne de vacuno (Johnston *et al.*, 2005). La  $a_w$  de la miel no es el único factor en la inhibición del crecimiento microbiano (Mothershaw y Jaffer, 2004), ya que hay además otros factores o agentes antibacterianos implicados: aquel que tiene origen en el  $H_2O_2$  y el debido a componentes distintos de éste (Cabrera *et al.*, 2006) como la acidez (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov, 1997; Dustmann, 1979; Mato *et al.*, 2000; Molan, 1992a).

**Tabla 4.1.** Efecto del empleo de un 19% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45) y mieles florales (M37 y MR), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de actividad de agua (aw) de falda de ternera picada (Control) envasada en aire y almacenada a 4 °C durante 6 días.

Muestra	Tiempo (días)		
	0	3	6
Control	0,88±0,04 <sup>aAB</sup>	0,94±0,05 <sup>aBC</sup>	0,90±0,02 <sup>aB</sup>
M12(L)	0,85±0,04 <sup>aAB</sup>	0,90±0,06 <sup>aABC</sup>	0,84±0,10 <sup>aAB</sup>
M12(D)	0,87±0,03 <sup>aAB</sup>	0,90±0,04 <sup>aBC</sup>	0,90±0,05 <sup>aAB</sup>
M37(L)	0,88±0,01 <sup>abAB</sup>	0,90±0,01 <sup>bB</sup>	0,85±0,01 <sup>aA</sup>
M37(D)	0,86±0,01 <sup>abA</sup>	0,89±0,01 <sup>bAB</sup>	0,85±0,01 <sup>aA</sup>
M45(L)	0,90±0,01 <sup>aB</sup>	0,94±0,01 <sup>bC</sup>	0,90±0,05 <sup>abAB</sup>
M45(D)	0,89±0,00 <sup>bB</sup>	0,91±0,03 <sup>abBC</sup>	0,83±0,01 <sup>aA</sup>
MR(L)	0,90±0,04 <sup>aAB</sup>	0,84±0,01 <sup>aA</sup>	0,84±0,02 <sup>aA</sup>
MR(D)	0,88±0,03 <sup>aAB</sup>	0,91±0,03 <sup>aBC</sup>	0,85±0,14 <sup>aAB</sup>

\*Prueba t-Student. Los valores en filas (letras minúsculas) y en columnas (letras mayúsculas) seguidos con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.2.3. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el color de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración.

En general, en las muestras de ternera picada (control) y en aquellas con un 19% (p/p) de miel (M12, M37, M45 y MR), hubo una disminución de la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) y la intensidad de color (valor  $C^*$ ), además de un aumento del pardeamiento (valor  $H^*$ ) durante los 6 días de almacenamiento (Tabla 4.2). Sin embargo, la tendencia al amarillo (valor  $b^*$ ) de ternera picada (control) permaneció estable mientras que en las muestras con miel aumentó durante el estudio (Tabla 4.2). Finalmente, la muestra control fue más clara (valores  $L^*$ ) con el tiempo del estudio mientras que las muestras con miel no siguieron una tendencia clara (Tabla 4.2). Este aumento del valor  $L^*$  de la muestra control con el tiempo de almacenamiento también fue observado por Quilo *et al.* (2009) en carne de vacuno picada, mientras que otros autores como Suman *et al.* (2010) publicaron una disminución del valor  $L^*$  en carne picada así como con sustancias con carácter antioxidante como quitosano. Por otro lado, la disminución del valor  $a^*$  observada en ternera picada (control) durante el almacenamiento también ha sido observada por otros autores en salchichas frescas de carne de cerdo (Martínez *et al.*, 2006) y en carne de vacuno picada (Suman *et al.*, 2010). Además, la disminución de la tendencia al rojo durante el tiempo de almacenamiento observada en las muestras con

miel, coincide con Suman *et al.* (2010) en su estudio de conservación de carne de vacuno picada con quitosano.

En cuanto al efecto de la miel sobre el color de ternera picada (control), se esperó que cambiara por el propio color de la miel, ya que diversos autores (de Lorenzo *et al.*, 2002; Pardo, 2005; Sancho *et al.*, 1999) lo han descrito desde casi incoloro hasta castaño oscuro, con un amplio rango de tonalidades intermedias (de Lorenzo *et al.*, 2002).

En general, se observó que el empleo de miel disminuyó la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) y la intensidad (valor  $C^*$ ), mientras que aumentó la tendencia al pardeamiento (valor  $H^*$ ) respecto al control a 0 días y durante el almacenamiento a 4 °C, excepto las mieles florales en forma líquida, que corresponden con las mieles más claras o con valores de absorbancia neta menores (capítulo 3, apartado 3.3.6), que no mostraron efecto a los 3 días de almacenamiento (Tabla 4.2). Por el contrario, en estudios de conservación con otras sustancias, otros autores como Georgantelis *et al.* (2007b) y Suman *et al.* (2010) publicaron que la adición a carne picada de vacuno de quitosano solo o combinado con romero o  $\alpha$ -tocoferol, contribuyó a la retención del color rojo durante más tiempo. Además, en nuestro estudio, a 0 días y durante el almacenamiento, las mieles líquidas disminuyeron la tendencia al amarillo (valor  $b^*$ ) respecto al control y en forma deshidratada la aumentaron (Tabla 4.2). Finalmente, el empleo de mieles líquidas disminuyó la luminosidad respecto al control a 0 días y durante el tiempo del estudio mientras que en forma deshidratada en general no mostró efecto (Tabla 4.2). En estudios de conservación con otras sustancias, también se ha observado que la carne picada con quitosano fue más oscura que su control almacenado a 1 °C durante 5 días (Suman *et al.*, 2010). Por último, Cheah y Abu Hasim (2000) observaron que la adición de BHT o  $\alpha$ -tocoferol no afectó los valores de los parámetros del color de carne de vacuno picada.



**Tabla 4.2.** Efecto del empleo de un 19% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45) y mieles florales (M37 y MR), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de color, L\* (luminosidad), a\* (rojo), b\* (amarillo), Chroma o C\* (saturación) y Hue o H\* (tono) de falda de ternera picada (Control) envasada en aire y almacenada a 4 °C durante 6 días

	Tiempo (días)	Control	M12(L)	M12(D)	M37(L)	M37(D)	M45(L)	M45(D)	MR(L)	MR(D)
L*	0	51,40±2,16 <sup>aD</sup>	45,85±4,51 <sup>aAB</sup>	48,58±4,72 <sup>abABC</sup>	45,72±1,29 <sup>aA</sup>	51,60±1,48 <sup>bCD</sup>	46,90±0,98 <sup>bB</sup>	51,18±1,13 <sup>bCD</sup>	46,40±1,98 <sup>aAB</sup>	51,36±2,26 <sup>aD</sup>
	3	52,29±3,07 <sup>abC</sup>	44,10±1,83 <sup>aA</sup>	47,73±1,03 <sup>aB</sup>	49,28±2,45 <sup>bB</sup>	53,80±0,86 <sup>cD</sup>	47,68±2,11 <sup>bB</sup>	53,23±1,16 <sup>cCD</sup>	47,62±2,23 <sup>aB</sup>	52,18±1,25 <sup>aC</sup>
	6	53,28±1,44 <sup>bE</sup>	44,00±0,28 <sup>aA</sup>	50,40±1,64 <sup>bCD</sup>	50,07±1,03 <sup>bC</sup>	49,10±0,61 <sup>aB</sup>	42,92±2,10 <sup>aA</sup>	49,48±0,97 <sup>abC</sup>	49,25±1,99 <sup>bBC</sup>	51,46±1,46 <sup>aD</sup>
a*	0	13,80±1,35 <sup>cE</sup>	12,17±2,69 <sup>bD</sup>	8,17±0,53 <sup>bA</sup>	14,09±0,62 <sup>cE</sup>	11,75±1,47 <sup>cD</sup>	10,94±0,68 <sup>cCD</sup>	10,10±0,52 <sup>cB</sup>	13,73±1,43 <sup>bE</sup>	10,22±1,10 <sup>cC</sup>
	3	8,07±1,50 <sup>aD</sup>	4,11±0,76 <sup>aA</sup>	5,38±1,15 <sup>aBC</sup>	6,56±2,40 <sup>bBCD</sup>	5,70±0,85 <sup>bC</sup>	5,49±1,13 <sup>bBC</sup>	4,78±0,48 <sup>bB</sup>	7,18±3,45 <sup>aCD</sup>	5,67±2,21 <sup>bBC</sup>
b*	6	12,51±1,02 <sup>bE</sup>	5,34±2,55 <sup>aCD</sup>	5,81±1,94 <sup>aD</sup>	3,93±0,79 <sup>aBC</sup>	3,85±0,38 <sup>aB</sup>	3,06±0,22 <sup>aA</sup>	3,95±0,40 <sup>aB</sup>	5,43±1,40 <sup>aD</sup>	4,36±0,45 <sup>aC</sup>
	0	8,02±0,88 <sup>aCD</sup>	7,01±0,95 <sup>aA</sup>	7,86±0,58 <sup>aBC</sup>	7,77±0,16 <sup>bC</sup>	9,09±0,66 <sup>aF</sup>	7,14±0,32 <sup>bA</sup>	8,84±0,41 <sup>aEF</sup>	7,39±0,83 <sup>bAB</sup>	8,39±0,68 <sup>aDE</sup>
	3	8,14±0,98 <sup>abB</sup>	7,11±0,88 <sup>aA</sup>	9,51±0,67 <sup>bC</sup>	6,53±0,72 <sup>aA</sup>	11,55±0,68 <sup>cD</sup>	6,91±0,44 <sup>bA</sup>	11,45±0,96 <sup>cD</sup>	6,66±0,80 <sup>aA</sup>	9,70±0,49 <sup>bC</sup>
C*	6	8,01±0,51 <sup>aC</sup>	7,20±0,70 <sup>abB</sup>	10,83±0,43 <sup>cF</sup>	8,75±1,21 <sup>cCD</sup>	9,87±0,50 <sup>bEF</sup>	6,17±0,62 <sup>aA</sup>	9,82±1,24 <sup>abDE</sup>	7,86±0,57 <sup>cC</sup>	9,85±0,56 <sup>bE</sup>
	0	15,98±1,42 <sup>cD</sup>	14,09±2,62 <sup>abC</sup>	11,35±0,54 <sup>aA</sup>	16,09±0,54 <sup>bD</sup>	14,87±1,42 <sup>cC</sup>	13,07±0,55 <sup>cB</sup>	13,42±0,63 <sup>cB</sup>	15,60±1,56 <sup>bCD</sup>	13,24±1,08 <sup>bB</sup>
	3	11,50±1,53 <sup>aDE</sup>	8,27±0,54 <sup>aA</sup>	10,99±0,43 <sup>aCD</sup>	9,38±1,90 <sup>aAB</sup>	12,91±0,46 <sup>bF</sup>	8,85±1,01 <sup>bAB</sup>	12,42±0,81 <sup>bEF</sup>	10,10±2,46 <sup>abC</sup>	11,40±1,15 <sup>aCD</sup>
H*	6	14,86±1,07 <sup>bF</sup>	9,20±1,59 <sup>bB</sup>	12,39±1,20 <sup>bE</sup>	9,65±0,81 <sup>abC</sup>	10,60±0,51 <sup>aD</sup>	6,89±0,65 <sup>aA</sup>	10,61±1,08 <sup>aCD</sup>	9,61±1,07 <sup>aB</sup>	10,78±0,61 <sup>aD</sup>
	0	30,20±2,83 <sup>abB</sup>	30,61±4,76 <sup>abC</sup>	43,85±2,88 <sup>aF</sup>	28,88±1,19 <sup>aAB</sup>	37,87±2,83 <sup>aD</sup>	33,18±2,22 <sup>aC</sup>	41,21±0,83 <sup>aE</sup>	28,28±1,97 <sup>aA</sup>	39,47±3,12 <sup>aD</sup>
	3	45,49±4,77 <sup>aA</sup>	59,71±7,20 <sup>bC</sup>	60,55±6,56 <sup>bCD</sup>	46,35±10,20 <sup>baB</sup>	63,70±4,48 <sup>bCD</sup>	51,92±4,10 <sup>bB</sup>	67,21±3,21 <sup>bD</sup>	45,64±13,58 <sup>baB</sup>	60,39±9,22 <sup>bC</sup>
	6	32,69±1,49 <sup>bA</sup>	55,12±12,51 <sup>bBC</sup>	62,41±7,39 <sup>bCDE</sup>	65,31±7,13 <sup>cD-G</sup>	68,70±2,03 <sup>cG</sup>	63,57±0,78 <sup>cD</sup>	67,80±4,10 <sup>bFG</sup>	55,78±6,01 <sup>cB</sup>	66,16±2,14 <sup>cEF</sup>

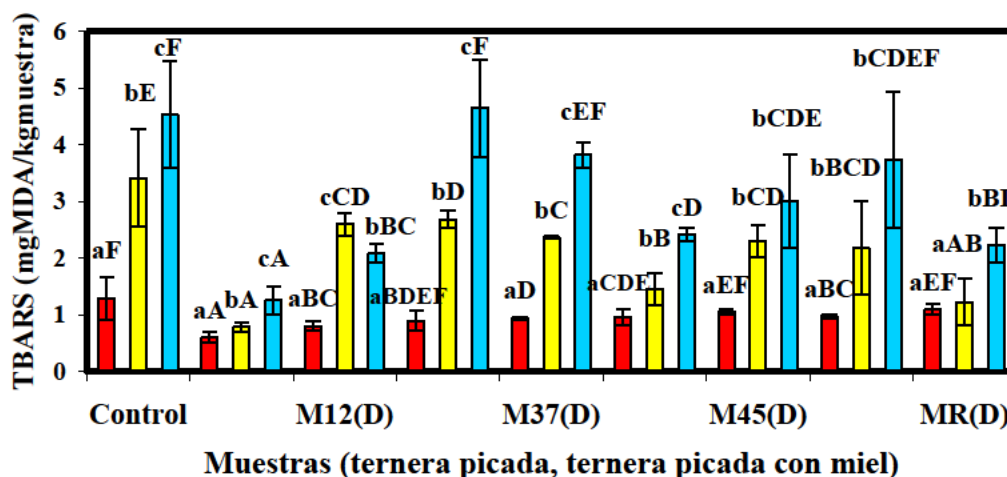
\*Prueba t-Student. Para cada parámetro, los valores en filas (letras mayúsculas) y en columnas (letras minúsculas) seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05).

#### **4.3.3. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración.**

Los valores TBARS (mgMDA/ kg muestra) evaluados en las muestras de ternera picada (control) y en aquellas con un 19% (p/p) de miel (M12, M37, M45 y MR), mostraron un aumento con el tiempo de almacenamiento a 4 °C, siendo menor en las muestras con miel (Figura 4.3). La oxidación lipídica es el factor principal no microbiano (Pradhan *et al.*, 2000) que causa el deterioro de la calidad de los alimentos (Gray *et al.*, 1996), especialmente de los cárnicos (Gray *et al.*, 1996; Pradhan *et al.*, 2000). Diversos autores también han observado el incremento de los valores TBARS durante el almacenamiento en salchichas de carne de cerdo y en carne picada de vacuno (Cheah y Abu Hasim, 2000; Martínez *et al.*, 2006; Naveena *et al.*, 2011; Suman *et al.*, 2010).

En cuanto al efecto del empleo de miel, se observó que la adición de las mieles de mielato mostró un efecto antioxidante sobre ternera picada (control) a los 3 y 6 días de almacenamiento, siendo mayor este efecto con el empleo de estas mieles en forma líquida (Figura 4.3). Además, las mieles florales en forma líquida, mostraron un efecto antioxidante sobre la carne de ternera picada a los 3 días de conservación a 4 °C (Figura 4.3). Como excepción, se observó que la miel MR (D) ejerció un papel antioxidante sobre ternera picada durante el almacenamiento (Figura 4.3). Este hecho podría atribuirse a una alteración de la actividad biológica de la miel al añadir el desecante natural harina de trigo. En otros estudios de conservación de carne picada, también se ha observado el efecto antioxidante de otras sustancias como quitosano solo o combinado con extracto de romero o  $\alpha$ -tocoferol (Georgantelis *et al.*, 2007b; Suman *et al.*, 2010).

Entre las distintas mieles líquidas, aquellas con los valores mayores de capacidad de captura del radical DPPH (65-66%) (apartado 3.3.2, capítulo 3) mostraron un efecto antioxidante sobre ternera picada (control), más efectivo que aquellas con los valores menores de capacidad de captura del radical DPPH (6-8%) (apartado 3.3.2, capítulo 3) (Figura 4.3). McKibben y Engeseth (2002) también observaron que la miel con un contenido antioxidante mayor fue también la más efectiva contra la oxidación lipídica de carne de pavo picada cocinada.



**Figura 4.3.** Efecto del empleo de un 19% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45) y mieles florales (M37 y MR), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada envasada en aire (Control) y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3 y (■) 6 días de almacenamiento. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.4. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la carga microbiana de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración.

En general, los recuentos de AM y BAL (log ufc/ g muestra) de las muestras de ternera picada (control) y de aquellas con un 19% (p/p) de miel (M12 y MR), aumentaron con el tiempo de almacenamiento a 4 °C, sobre todo en el control (Figura 4.4). Este aumento de los recuentos de microorganismos viables totales (Georgantelis *et al.*, 2007a; Nagai *et al.*, 2006) y BAL (Georgantelis *et al.*, 2007a) ha sido observado también en salchichas de cerdo frescas en presencia o no de  $\alpha$ -tocoferol (Georgantelis *et al.*, 2007a) y en carne (Nagai *et al.*, 2006).

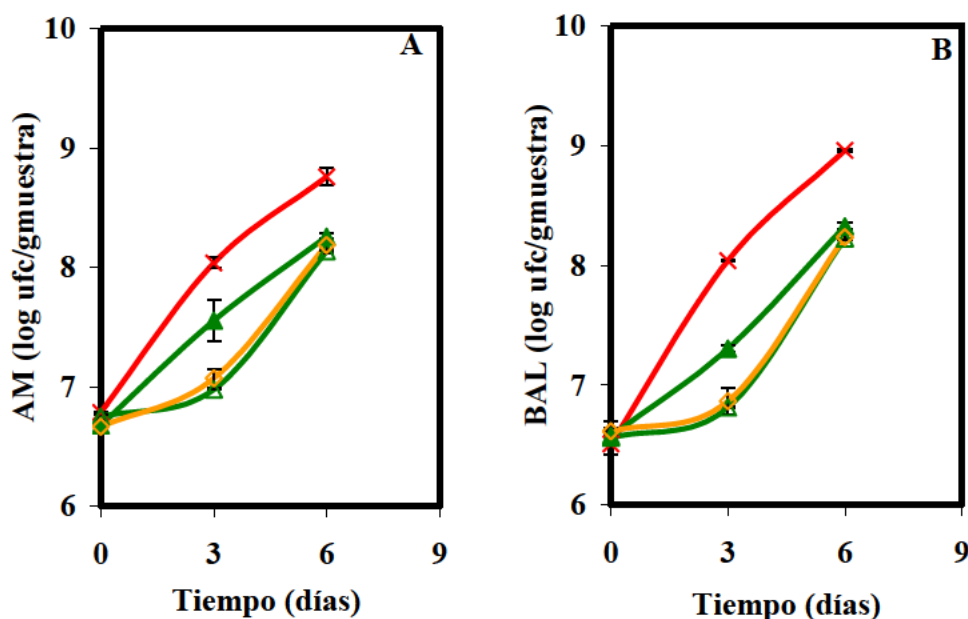
Además, las muestras con miel, mostraron recuentos de AM y BAL menores que los de ternera picada (control) durante los 6 días de almacenamiento (Figura 4.4). Este efecto antibacteriano también fue observado por Nagai *et al.* (2006) que publicaron que el recuento total de viables tras 7 días de almacenamiento en carne con un 5% (v/v) de distintas mieles ( $2,0 \times 10^3$  UFC/g), fue menor que en la carne de vacuno ( $10^4$  UFC/g). Por el contrario, en otros estudios de conservación con diversas sustancias, otros autores como Cheah y Abu Hasim (2000) publicaron que la adición de  $\alpha$ -tocoferol no redujo de manera efectiva los recuentos de microorganismos totales de la carne de vacuno picada y Fernández *et al.* (2005) no observaron con el empleo de extracto de romero una

disminución significativa en el recuento de BAL en albóndigas de carne de vacuno tras 12 días.

El efecto antibacteriano de las mieles del estudio, independientemente de la capacidad antibacteriana no peroxídica (capítulo 3, apartado 3.3.8), podría atribuirse a que esta propiedad de la miel es el resultado de una compleja operación de varios factores (Socha *et al.*, 2011) y por tanto, se debe principalmente a dos agentes antibacterianos (Cabrera *et al.*, 2006): aquel que tiene origen en el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resultante de peroxidasas aportadas por las abejas (Sanz y Sanz, 2004) y la enzima glucosa oxidasa (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov, 1997; Dustmann, 1979; Molan, 1992a; Molan y Russell, 1988; Weston, 2000; Weston *et al.*, 1999) y el debido a componentes distintos del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Cabrera *et al.*, 2006) como la osmolaridad (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov, 1997; Dustmann, 1979; Molan, 1992a; Weston, 2000) debida a sus niveles elevados de azúcares (Osato *et al.*, 1999) y la acidez (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Bogdanov, 1997; Dustmann, 1979; Mato *et al.*, 2000; Molan, 1992a) debida mayoritariamente a la presencia de ácido glucónico (Molan, 1992).

En nuestro estudio, destacó el mayor efecto antimicrobiano de las mieles en forma deshidratada, que tras 3 días de almacenamiento, redujo los recuentos en 1 unidad logarítmica respecto al control (Figura 4.4). El hecho de que las mieles en forma deshidratada ralentizaran el crecimiento bacteriano, podría estar relacionado con la disminución de la  $a_w$  al añadir el desecante natural harina de trigo; sin embargo, no se observaron diferencias de este parámetro entre las muestras con miel en forma líquida o deshidratada (Tabla 4.1).

Los valores altos de los recuentos microbianos observados en las muestras a tiempo 0 días superan los límites permitidos para carne picada (DOUE L\_338, 2005). Esto podría atribuirse al procedimiento de picado, que aumenta la superficie del producto al aire y a su manipulación. También Javanmard *et al.* (2006) obtuvieron conteos de microorganismos viables de 10<sup>7</sup> ufc/g a 0 días en carne de pollo. Aún así, se observó en las muestras evaluadas que la miel ralentizaba el crecimiento de AM y BAL (Figura 4.4).



**Figura 4.4.** Efecto del empleo de un 19% (p/p) de miel de mielato (M12) y miel floral (MR), en forma líquida (símbolo cerrado) o deshidratada (símbolo abierto), sobre los recuentos de (A) microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y (B) bacterias ácido lácticas (BAL) de falda de ternera picada (x) envasada en aire y almacenada a 4 °C durante 6 días. ▲ M12 y ◆ MR.

#### 4.3.5. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada en aire y almacenada en refrigeración.

Los compuestos volátiles más representativos observados durante el almacenamiento de ternera picada (control) almacenada a 4 °C durante 6 días, fueron 3-hidroxi-2-butanona, 2,3-butanodiona, 3-metil-1-butanol, 1-hexanol y los ácidos acético y butanóico (Pérez *et al.*, 2008) que en general aumentaron en el tiempo de conservación (Figura 4.5.A y Tabla 4.3). Cambios en los compuestos volátiles durante el almacenamiento en refrigeración pueden mostrar deterioro químico, microbiano o enzimático en carne (Vinauskiene *et al.*, 2002). Así, el compuesto 3-hidroxi-2-butanona del control aumentó hasta 37 veces (x37) durante el almacenamiento y obtuvo un área de pico máximo de  $575,07 \times 10^6$  UA (unidades arbitrarias) (Figura 4.5.A y Tabla 4.3).

Este compuesto, acetoina o 3-hidroxi-2-butanona, puede sintetizarse durante la degradación microbiana de aspartato (Ardö, 2006) y/o proceder del catabolismo de la glucosa o la fermentación microbiana de los glúcidos (Kandler, 1983; Leroy *et al.*, 2009), aunque otros autores lo relacionan con la oxidación (Stetzer *et al.*, 2008). El compuesto 2,3-butanodiona del control aumentó aproximadamente 8 veces (área de pico máximo alrededor de  $50,00 \times 10^6$  UA) (Figura 4.5.A y Tabla 4.3). Dicho compuesto es

producido mediante el metabolismo de citrato y lactosa (Cogan, 1995) por la acción de diferentes bacterias, sobre todo por las bacterias ácido lácticas, aunque también puede ser producido por otros microorganismos como estafilococos (Berdagué *et al.*, 1993; Olesen *et al.*, 2004) o generado del metabolismo del piruvato (Estévez *et al.*, 2003).

En las muestras de ternera picada el compuesto 3-metil-1-butanol aumentó un máximo de 30 veces ( $31,00 \cdot 10^6$  UA) (Figura 4.5.A y Tabla 4.3). El compuesto 3-metilbutanol es considerado como un posible producto de conversión bacteriano de leucina (Smit *et al.*, 2005). La carne picada envasada en aerobiosis mostró un incremento del compuesto 1-hexanol de hasta 15 veces ( $53,39 \cdot 10^6$  UA) y de los ácidos acético ( $7,18 \cdot 10^6$  UA) y butanóico ( $3,17 \cdot 10^6$  UA) del doble (Figura 4.5.A y Tabla 4.3). Los alcoholes de cadena recta proceden de la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (Forss, 1972). El ácido acético tiene su origen principalmente en el metabolismo microbiano de glúcidos (Kandler, 1983). Además, los ácidos de cadena corta (< 6 átomos de carbono) tienen un efecto importante en el desarrollo del aroma debido a sus olores característicos descritos como vinagre, queso o pepino (Stahnke, 1995b) y sus bajos valores umbrales de olor (Belitz y Grosch, 1997). Sin embargo, la señal de hexanal del control disminuyó durante el tiempo de almacenamiento hasta 70 veces (Figura 4.5.A y Tabla 4.3). Algunos aldehídos de cadena recta como el hexanal ha sido utilizado comúnmente para monitorizar la oxidación lipídica, no sólo en jamón curado (Cava *et al.*, 1999) sino en varios productos cárnicos (Shahidi, 1998). Es un producto de la oxidación lipídica secundaria y el aldehído predominante, que juega un papel importante en el *flavor* oxidado de todas las carnes, en particular, de cerdo (Frankel *et al.*, 1984; Shahidi y Pegg, 1994b). Los aldehídos tienen un gran impacto sobre el aroma del producto debido a que poseen umbrales de olor bajos (Muriel *et al.*, 2004). Exhiben aromas característicos como mantequilla, dulce, floral, tostado o a verde (Belitz y Grosch, 1997; Stahnke, 1998). Por tanto, el perfil volátil de falda de ternera picada cambió a lo largo el tiempo de conservación en refrigeración, mostrando un aumento de la señal de aquellos compuestos derivados la actividad microbiana como 2,3-butanodiona, 3-metil-1-butanol, ácido butanóico y ácido acético y de la oxidación como 3-hidroxi-2-butanona y los alcoholes de cadena recta (1-hexanol y 1-pentanol).

En lo referente al efecto del empleo de un 19% (p/p) de miel (M12 y MR) en forma líquida, ya fuera una miel de mielato o una miel floral, los compuestos que mostraron un área de pico mayor fueron 3-hidroxi-2-butanona y ácido acético (Figuras 4.5.B y 4.5.D, Tabla 4.3). Así, la señal de 3-hidroxi-2-butanona incrementó su valor un máximo de 9 veces con la miel MR ( $139,92 \cdot 10^6$  UA) y 13 veces con M12 ( $281,63 \cdot 10^6$  UA) durante el almacenamiento (Figuras 4.5.B y 4.5.D, Tabla 4.3). Además, en estas muestras, el compuesto ácido acético aumentó un máximo de alrededor de 15 ( $149,11 \cdot 10^6$  UA) y 62 veces ( $347,59 \cdot 10^6$  UA) con MR y M12, respectivamente, en el tiempo del estudio (Figuras 4.5.B y 4.5.D, Tabla 4.3).

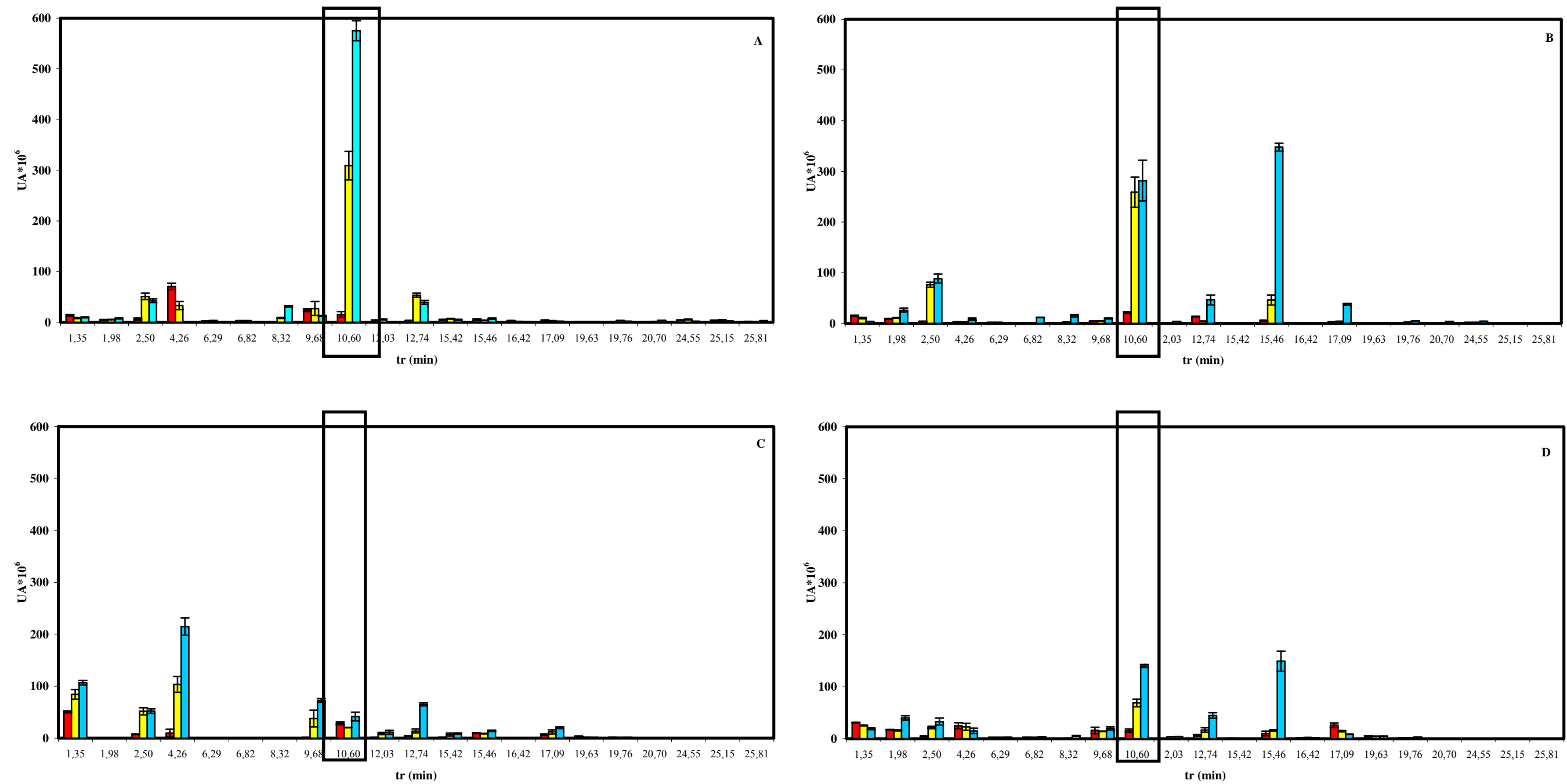
También, la adición de las mieles en forma líquida aumentó con el tiempo de almacenamiento los compuestos etanol (x3,  $26,12 \cdot 10^6$  UA con la miel de mielato y  $40,09 \cdot 10^6$  UA con la miel de romero), 2,3-butanodiona ( $88,40 \cdot 10^6$  UA, x22 con la miel de mielato y  $32,95 \cdot 10^6$  UA, x7 con la miel MR), 3-metil-1-butanol ( $14,89 \cdot 10^6$  UA, x25 con la miel M12 y  $5,42 \cdot 10^6$  UA, x5 con MR), 1-hexanol (x11 con miel de mielato y x7 con la miel floral obteniendo áreas de pico de  $45,00 \cdot 10^6$  UA) y ácido butanóico (x4, con áreas de pico alrededor de  $4,00 \cdot 10^6$  UA) (Figuras 4.5.B y 4.5.D, Tabla 4.3). Sin embargo, en las muestras con miel de mielato, los valores de los compuestos hexanal ( $8,44 \cdot 10^6$  UA, x4) y benzaldehído ( $37,66 \cdot 10^6$  UA, x12) aumentaron, mientras que en las muestras con la miel floral las señales de hexanal ( $15,04 \cdot 10^6$  UA, x1,66) y benzaldehído ( $25,91 \cdot 10^6$  UA, x2,9) disminuyeron con el tiempo de almacenamiento (Figuras 4.5.B y 4.5.D, Tabla 4.3).

De manera distinta a lo observado con la adición de las mieles líquidas, con el empleo de la miel de mielato en forma deshidratada, los compuestos que obtuvieron un área de pico mayor fueron hexanal ( $214,61 \cdot 10^6$  UA, x2) y acetona ( $106,70 \cdot 10^6$  UA, x2) (Figura 4.5.C y Tabla 4.3). Además, los compuestos 2,3-butanodiona ( $52,28 \cdot 10^6$  UA, x7), 1-pentanol ( $72,63 \cdot 10^6$  UA, x50), 1-hexanol ( $64,98 \cdot 10^6$  UA, x14), 3-hidroxi-2-butanona ( $41,53 \cdot 10^6$  UA, x2), benzaldehído ( $20,12 \cdot 10^6$  UA, x3) y los ácidos acético ( $14,09 \cdot 10^6$  UA, x1,5) y butanóico ( $1,68 \cdot 10^6$  UA, x1,5) aumentaron durante el tiempo del estudio (Figura 4.5.C y Tabla 4.3). En cuanto a las cetonas de cadena recta, éstas pueden derivar de la oxidación lipídica (Belitz y Grosch, 1997). Además, las cetonas, especialmente las 2-cetonas, tienen una gran influencia sobre el aroma del queso, carne y productos cárnicos cuando se presentan en grandes cantidades y tienen aromas

característicos a etéreo, mantequilla, especias o queso azul (Lecanu *et al.*, 2002; Novelli *et al.*, 1995).

Por tanto, el empleo de miel controló los valores del compuesto 3-hidroxi-2-butanona de ternera picada (control) durante el almacenamiento en refrigeración (Figuras 4.5.B, 4.5.C y 4.5.D, Tabla 4.3). Además, la adición de miel aumentó la señal de hexanal, sobre todo en forma deshidratada al final del tiempo del estudio, con lo que la ruta de degradación sería principalmente oxidativa, mientras que el empleo en forma líquida aumentó los valores del compuesto ácido acético, siendo la principal ruta degradativa la microbiana (Figuras 4.5.B, 4.5.C y 4.5.D, Tabla 4.3).





**Figura 4.5.** Perfil volátil de falda de ternera picada (A) con un 19% (p/p) de miel de mielato (M12) (B) en forma líquida (C) o deshidratada y (D) miel floral (MR) en forma líquida, envasadas en aire y almacenadas a 4 °C durante (■) 0, (■) 3 y (■) 6 días. tr, min: 1,35 (acetona), 2,50 (2,3-butanodiona), 4,26 (hexanal), 8,32 (3-metil-1-butanol), 9,68 (1-pentanol), 10,60 (3-hidroxi-2-butanona), 12,74 (1-hexanol), 15,46 (ácido acético), 17,09 (benzaldehído).

**Tabla 4.3.** Efecto del empleo de un 19% (p/p) de miel de mielato (M12), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)] y miel floral (MR) en forma (L), sobre el perfil volátil de falda de ternera picada (Control) envasada en aire y almacenada a 4 °C durante 6 días.

	Muestra	Control	M12(L)	M12(D)	MR(L)	Control	M12(L)	M12(D)	MR(L)	Control	M12(L)	M12(D)	MR(L)
	Tiempo (días)	0	0	0	0	3	3	3	3	6	6	6	6
Compuesto	tr (min)												
Acetona	1,35	13,42±1,8 <sup>bA</sup>	14,99±1,00 <sup>cA</sup>	50,76±1,84 <sup>aC</sup>	31,12±0,25 <sup>cB</sup>	8,25±0,85 <sup>aA</sup>	10,40±1,36 <sup>bB</sup>	84,36±9,44 <sup>bD</sup>	25,30±0,78 <sup>bC</sup>	9,53±0,92 <sup>aB</sup>	3,67±0,38 <sup>aA</sup>	106,70±4,33 <sup>cD</sup>	19,04±1,58 <sup>aC</sup>
Etanol	1,98	4,84±0,81 <sup>aA</sup>	8,82±1,13 <sup>aB</sup>	-----	17,42±0,49 <sup>bC</sup>	5,33±0,29 <sup>aA</sup>	10,86±0,48 <sup>bB</sup>	-----	16,01±0,96 <sup>aC</sup>	7,53±1,02 <sup>bA</sup>	26,12±3,95 <sup>cB</sup>	-----	40,09±4,09 <sup>cC</sup>
2,3-butano diona	2,50	6,54±1,73 <sup>aBC</sup>	3,88±0,64 <sup>aA</sup>	7,50±0,67 <sup>aC</sup>	4,52±1,04 <sup>aAB</sup>	51,06±6,49 <sup>bB</sup>	76,28±5,12 <sup>bC</sup>	51,68±7,06 <sup>bB</sup>	21,64±2,34 <sup>bA</sup>	42,41±3,67 <sup>bA</sup>	88,40±9,10 <sup>bC</sup>	52,28±4,27 <sup>bB</sup>	32,95±6,77 <sup>cA</sup>
Hexanal	4,26	70,70±6,26 <sup>bD</sup>	2,52±0,78 <sup>aA</sup>	9,74±7,40 <sup>aB</sup>	24,97±5,59 <sup>bC</sup>	32,92±8,10 <sup>aB</sup>	2,18±0,80 <sup>aA</sup>	103,59±15,20 <sup>bC</sup>	22,78±6,83 <sup>abB</sup>	-----	8,44±2,22 <sup>bA</sup>	214,61±16,79 <sup>cB</sup>	15,04±5,14 <sup>aA</sup>
1-butanol	6,29	2,89±0,11 <sup>bB</sup>	1,91±0,45 <sup>bA</sup>	-----	2,72±0,15 <sup>aB</sup>	2,25±1,55 <sup>abAB</sup>	1,69±0,36 <sup>bA</sup>	-----	2,62±0,06 <sup>aB</sup>	0,51±0,08 <sup>aA</sup>	0,86±0,10 <sup>aB</sup>	-----	2,82±0,43 <sup>aC</sup>
1-penten- 3-ol	6,82	3,01±0,25 <sup>bB</sup>	0,72±0,14 <sup>aA</sup>	-----	2,54±0,79 <sup>aB</sup>	2,81±0,35 <sup>bB</sup>	0,87±0,12 <sup>aA</sup>	-----	2,60±0,11 <sup>aB</sup>	0,62±0,147 <sup>aA</sup>	11,96±0,20 <sup>bC</sup>	-----	3,31±0,68 <sup>aB</sup>
3-metil- 1-butanol	8,32	-----	0,58±0,19 <sup>a</sup>	-----	-----	8,68±0,81 <sup>aC</sup>	2,60±0,33 <sup>bB</sup>	-----	0,66±0,39 <sup>aA</sup>	31,00±1,52 <sup>bC</sup>	14,89±2,31 <sup>cB</sup>	-----	5,42±0,93 <sup>bA</sup>
1-pentanol	9,68	24,05±2,71 <sup>bD</sup>	4,30±0,40 <sup>aB</sup>	1,42±0,36 <sup>aA</sup>	15,90±6,35 <sup>abC</sup>	27,22±13,81 <sup>abBC</sup>	4,85±0,43 <sup>aA</sup>	37,81±16,09 <sup>bC</sup>	14,19±0,27 <sup>aB</sup>	12,59±0,92 <sup>aB</sup>	9,72±0,96 <sup>bA</sup>	72,63±3,45 <sup>cD</sup>	19,83±3,04 <sup>bC</sup>
3-hidroxi- 2-butanona	10,60	15,50±5,68 <sup>aAB</sup>	21,26±1,93 <sup>aB</sup>	28,86±2,64 <sup>bC</sup>	15,26±3,20 <sup>aA</sup>	308,99±28,09 <sup>bC</sup>	258,68±29,80 <sup>bC</sup>	20,33±0,40 <sup>aA</sup>	68,84±7,32 <sup>bB</sup>	575,07±19,82 <sup>cD</sup>	281,63±40,02 <sup>bC</sup>	41,53±8,47 <sup>cA</sup>	139,92±2,89 <sup>cB</sup>
2-metil- 3-octanona	12,03	3,68±0,96 <sup>bC</sup>	0,49±0,11 <sup>aA</sup>	1,43±0,36 <sup>aB</sup>	-----	5,67±1,02 <sup>cC</sup>	1,23±0,35 <sup>bA</sup>	8,99±2,17 <sup>bD</sup>	3,64±0,21 <sup>aB</sup>	0,43±0,093 <sup>aA</sup>	3,48±0,63 <sup>cB</sup>	11,33±3,69 <sup>bC</sup>	3,89±0,44 <sup>aB</sup>
1-hexanol	12,74	3,63±0,19 <sup>aA</sup>	13,58±0,26 <sup>bD</sup>	4,41±0,36 <sup>aB</sup>	6,30±1,40 <sup>aC</sup>	53,39±4,05 <sup>cC</sup>	4,10±0,75 <sup>aA</sup>	13,66±3,76 <sup>bB</sup>	16,71±4,24 <sup>bB</sup>	39,28±3,90 <sup>bA</sup>	46,36±9,78 <sup>cA</sup>	64,98±2,93 <sup>cB</sup>	44,68±5,46 <sup>cA</sup>
1-octen- 3-ol	15,42	4,98±0,75 <sup>aB</sup>	-----	1,50±0,77 <sup>aA</sup>	0,67±0,32 <sup>A</sup>	6,94±0,59 <sup>bA</sup>	-----	6,84±2,96 <sup>bA</sup>	-----	4,90±0,90 <sup>aA</sup>	-----	9,03±1,03 <sup>bB</sup>	-----
Ácido acético	15,46	5,56±1,46 <sup>abA</sup>	5,58±1,03 <sup>aA</sup>	9,85±0,91 <sup>aB</sup>	10,16±4,40 <sup>aAB</sup>	3,86±0,37 <sup>aA</sup>	46,12±9,94 <sup>bD</sup>	8,81±0,30 <sup>aB</sup>	16,11±1,35 <sup>bC</sup>	7,18±1,41 <sup>bA</sup>	347,59±7,90 <sup>cD</sup>	14,09±1,20 <sup>bB</sup>	149,11±19,43 <sup>cC</sup>
2-etil- 1-hexanol	16,42	2,46±1,19 <sup>aAB</sup>	1,40±0,17 <sup>aB</sup>	-----	1,17±0,07 <sup>aA</sup>	1,70±0,27 <sup>aA</sup>	1,48±0,14 <sup>aA</sup>	-----	1,39±1,10 <sup>abA</sup>	1,43±0,08 <sup>aA</sup>	-----	-----	1,77±0,15 <sup>bB</sup>
Benzaldehído	17,09	3,14±1,51 <sup>aA</sup>	2,97±0,31 <sup>aA</sup>	6,68±1,45 <sup>aB</sup>	25,91±4,51 <sup>cC</sup>	2,02±1,44 <sup>aA</sup>	3,58±0,87 <sup>aA</sup>	12,00±3,92 <sup>bB</sup>	14,40±1,20 <sup>bB</sup>	1,69±0,62 <sup>aA</sup>	37,66±2,01 <sup>bD</sup>	20,12±1,56 <sup>cC</sup>	8,84±0,21 <sup>aB</sup>
Butirolactona	19,63	1,11±0,26 <sup>aA</sup>	1,06±0,03 <sup>aA</sup>	3,47±0,45 <sup>bB</sup>	3,64±2,16 <sup>aAB</sup>	0,95±0,04 <sup>aA</sup>	1,19±0,09 <sup>bB</sup>	1,95±0,21 <sup>aC</sup>	4,60±0,14 <sup>aD</sup>	1,11±0,21 <sup>aA</sup>	1,32±0,03 <sup>cA</sup>	1,80±0,02 <sup>aB</sup>	4,77±0,40 <sup>aC</sup>
Ácido butanóico	19,76	1,18±0,10 <sup>aA</sup>	1,09±0,33 <sup>aA</sup>	1,38±0,8 <sup>abA</sup>	1,18±0,07 <sup>aA</sup>	3,17±0,41 <sup>bC</sup>	2,03±0,35 <sup>bB</sup>	1,16±0,26 <sup>aA</sup>	1,19±0,27 <sup>aA</sup>	1,75±0,50 <sup>aA</sup>	4,73±0,37 <sup>cC</sup>	1,68±0,19 <sup>bA</sup>	3,13±0,07 <sup>bB</sup>
Ácido 3-metil- butanóico	20,70	-----	-----	-----	-----	1,54±0,13 <sup>aB</sup>	0,90±0,28 <sup>aA</sup>	-----	-----	3,32±0,55 <sup>bA</sup>	3,32±0,75 <sup>bA</sup>	-----	-----
Ácido hexanóico	24,55	4,42±0,24 <sup>bB</sup>	1,96±0,32 <sup>aA</sup>	-----	-----	5,48±0,74 <sup>cB</sup>	1,96±0,32 <sup>aA</sup>	-----	-----	1,75±0,50 <sup>aA</sup>	4,06±0,35 <sup>bB</sup>	-----	-----
Alcohol bencilo	25,15	3,05±1,36 <sup>a</sup>	-----	-----	-----	3,10±1,96 <sup>a</sup>	-----	-----	-----	2,08±0,42 <sup>a</sup>	-----	-----	-----
Fenil etil alcohol	25,81	1,69±0,07 <sup>b</sup>	-----	-----	-----	1,09±0,11 <sup>a</sup>	-----	-----	-----	2,89±0,43 <sup>cB</sup>	1,05±0,35 <sup>A</sup>	-----	-----

\*Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestra (letras mayúsculas), los valores en filas seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p&lt;0,05).

#### **4.3.6. Estudio estructural de las muestras envasadas en aire y almacenadas en refrigeración.**

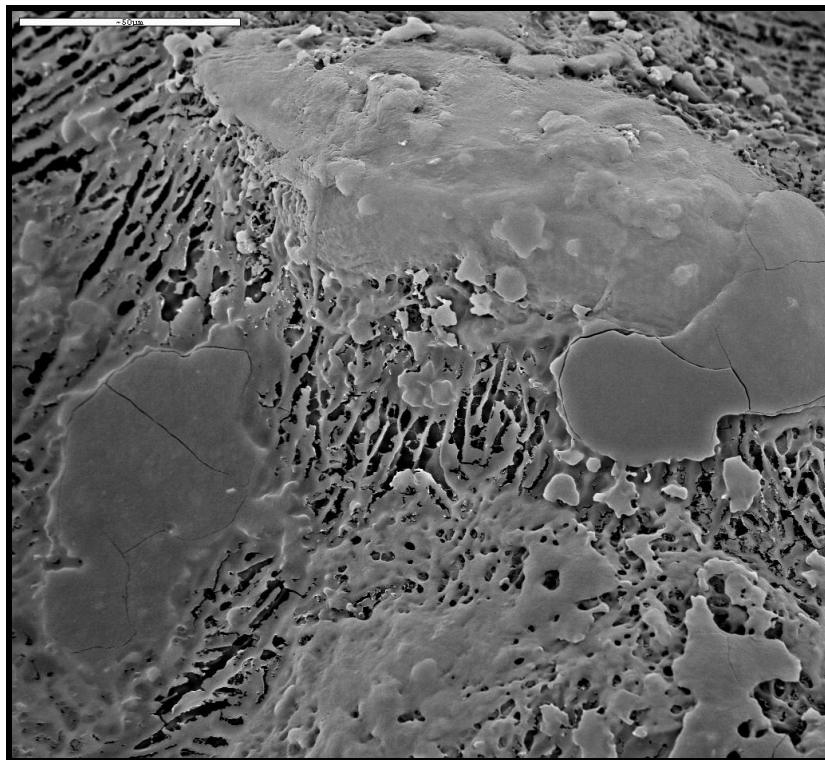
En el estudio estructural realizado en ternera picada (control), se observó a los 0 días que la grasa era abundante y aparecía como una capa continua sobre las fibras cárnicas (Figura 4.6.A). También, con un aumento mayor se apreció la grasa y el líquido de exudación congelado por efecto del frío en la carne picada (Figura 4.6.B). Además, se observó en carne picada que no había una unión intercelular muy evidente de tejido conectivo, las células tendían a separarse y el contenido del citoplasma era denso (Figura 4.6.C).

A los 21 días de almacenamiento a 4 °C, se observó en la muestra control unas fibras cortadas transversalmente y otras longitudinalmente como consecuencia del desorden estructural que confiere el proceso de picado, aunque había una buena organización estructural de las fibras y las células; es decir, no se apreciaban señales evidentes de deterioro (Figura 4.6.E). A mayor aumento se observó la grasa y los jugos exudados en estado congelado (Figura 4.6.F). Algunos autores también han observado en carne cruda huecos visibles entre las fibras (García *et al.*, 2007; Palka, 1999; Palka y Duan, 1999; Szerman *et al.*, 2012). Szerman *et al.* (2012) mostraron con micrografías del músculo de vacuno crudo, que la microestructura de la célula fue principalmente modificada por el tratamiento mecánico aplicado (rodado), mostrando una estructura desorganizada.

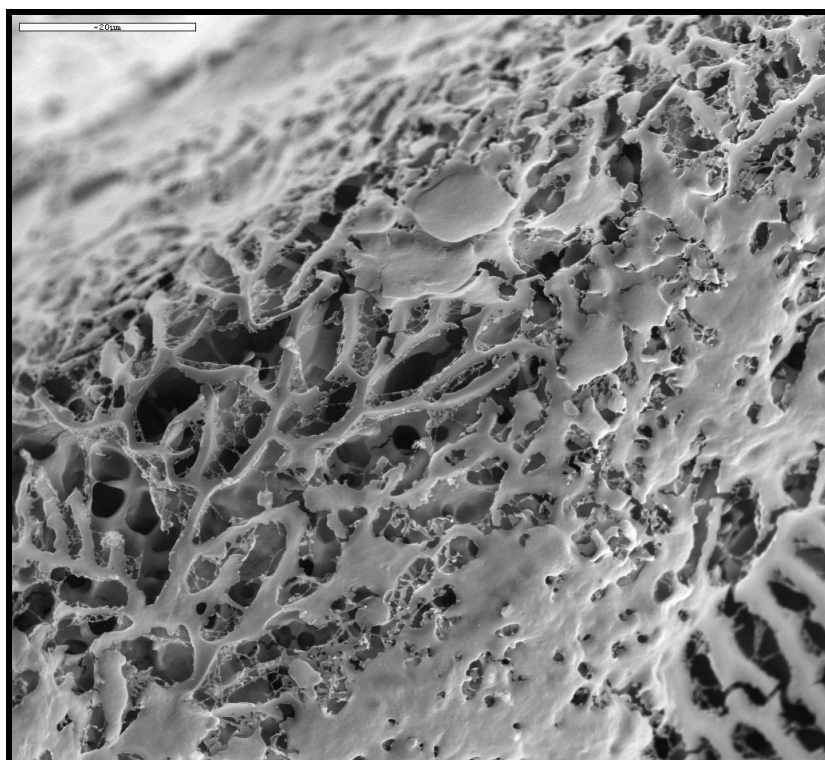
Por otro lado, en las muestras de carne picada, se observó a 0 días indicios de contaminación bacteriana (Figura 4.6.D) y a los 21 días se observó una contaminación microbiana y/o levaduriforme alta (Figura 4.6.F).

En muestras de ternera picada con un 15% (p/p) de miel M45 en forma líquida, a los 0 días aparecía la miel como una capa que cubría las fibras de la carne picada cruda, restos de grasa y exudados (Figura 4.7.A). En algunas zonas esta capa se había roto dejando pequeños orificios (Figura 4.7.B). Además, en las muestras con la misma miel en forma (D), a 0 días, se observaron los glomérulos de la miel junto con grasa y exudados congelados (Figura 4.7.C). Otros autores también observaron que la adición de otras sustancias (nueces) o aditivos (NaCl, concentrado de proteína del suero

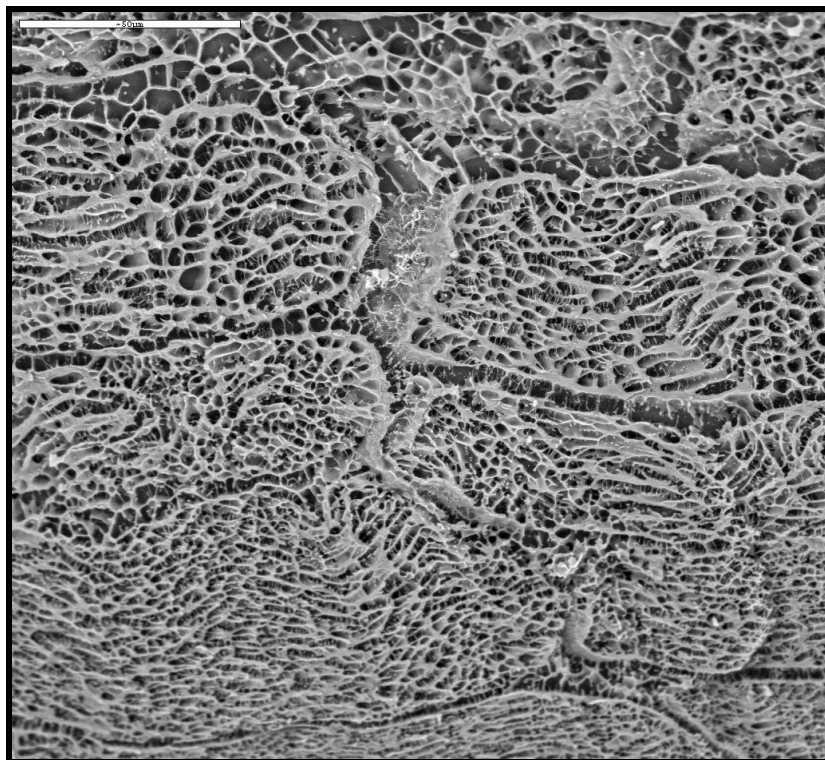
modificada o no y tripolifosfato de sodio) cambiaban o alteraban la microestructura de la carne (Jiménez *et al.*, 2003; Szerman *et al.*, 2012).



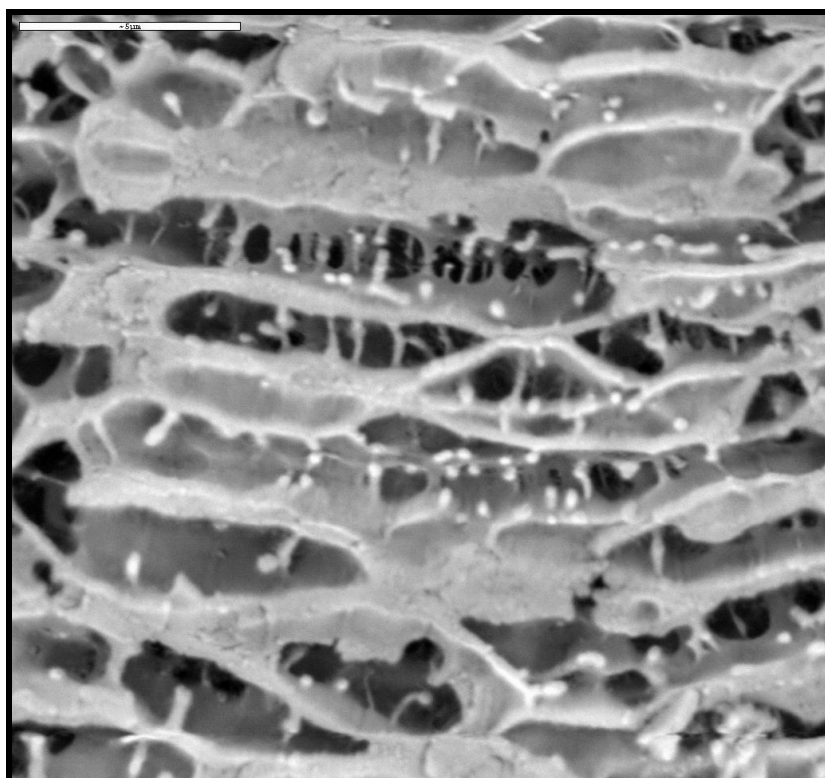
**A.** Superficie (x500)



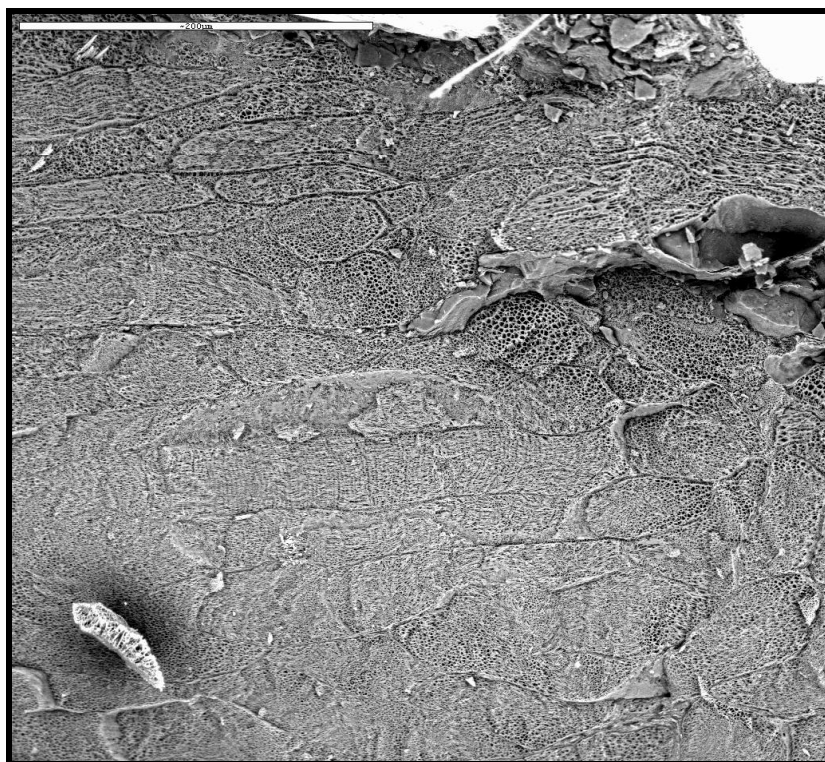
**B.** Superficie (x1000)



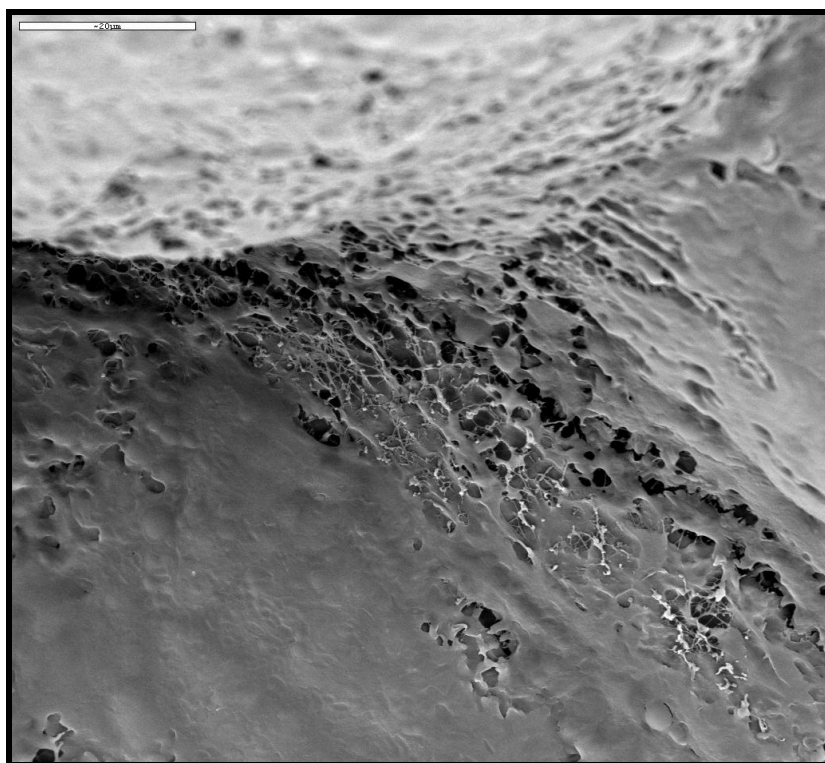
C. Criofractura (x500)



D. Criofractura (x5000)



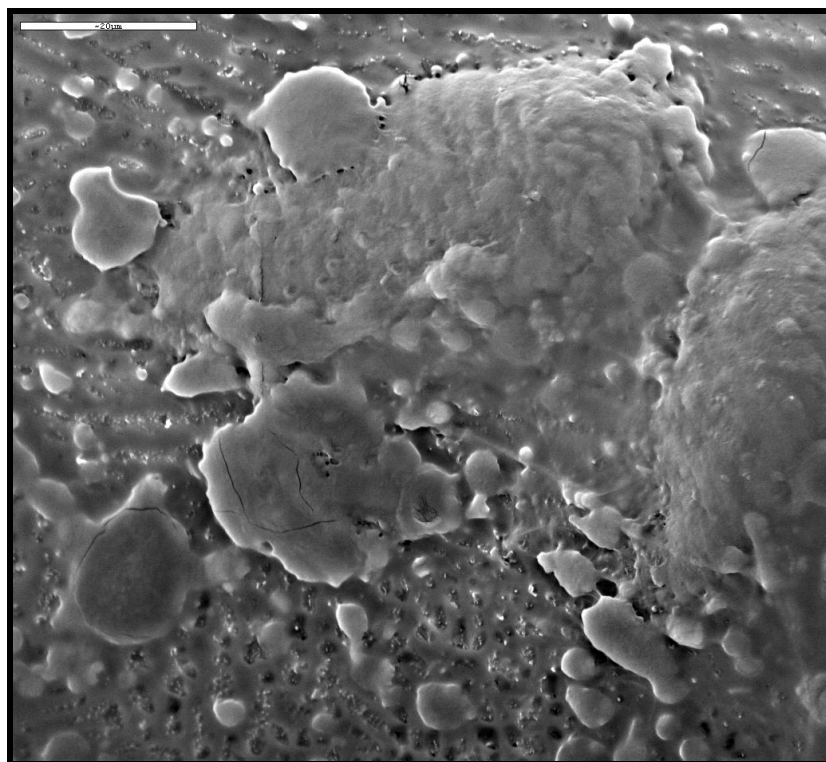
**E.** Superficie (x200)



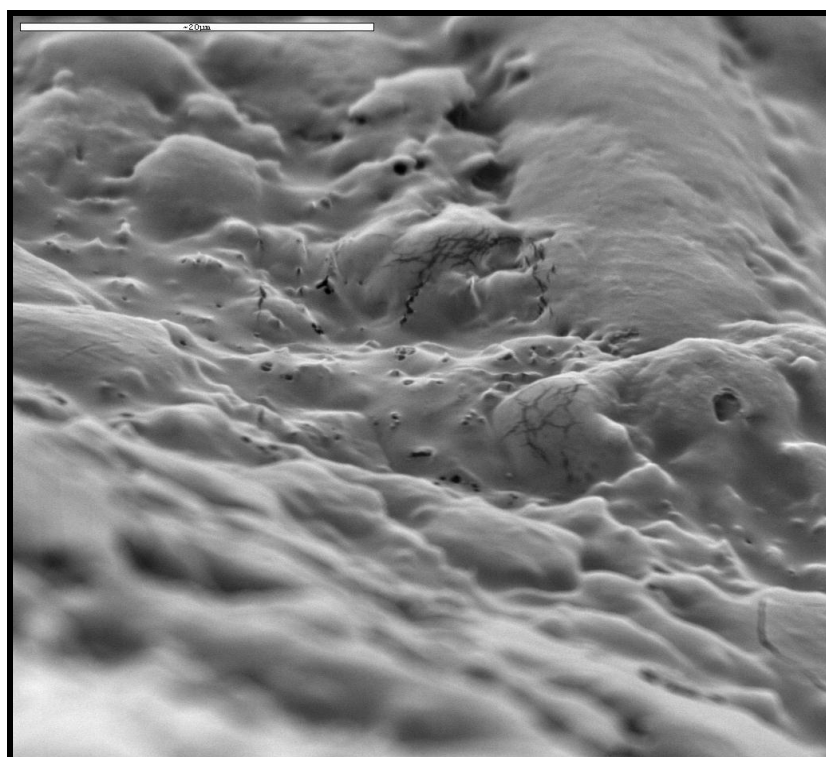
**F.** Superficie (x1000)

**Figura 4.6.** Micrografías de la microestructura de falda de ternera picada envasada en aire a 4 °C a 0 (A, B, C, D) y 21 días (E y F) de almacenamiento.

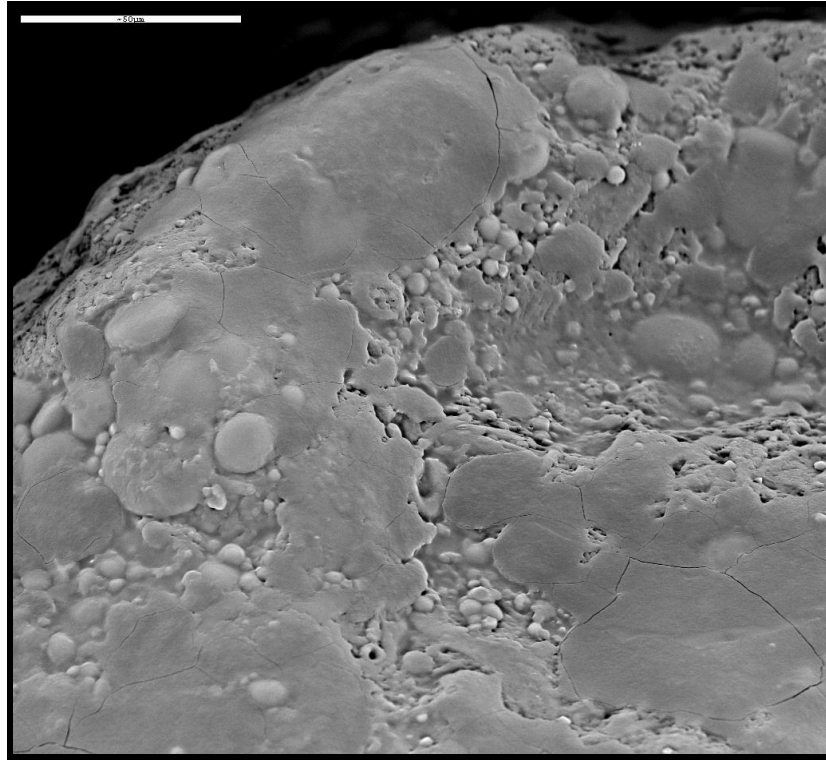




**A.** Superficie (x1000)



**B.** Superficie (x2000)



C. Superficie (x500)

**Figura 4.7.** Micrografías de la microestructura de falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida (**A** y **B**) y en forma deshidratada (**C**) envasada en aire a 0 días de almacenamiento a 4 °C.



**Capítulo 5: Empleo de miel artesanal  
sobre la conservación de falda de  
ternera picada envasada a vacío y  
almacenada en refrigeración**



### 5.1. INTRODUCCIÓN.

El envasado a vacío es un proceso basado en la eliminación del aire del alimento (Gil y Ruiz, 2010) en un film con baja permeabilidad al O<sub>2</sub> y el cerrado de éste tras realizar la evacuación del aire (López y Casp, 2004). En el envasado a vacío, la composición de la fase gaseosa cambia durante el almacenamiento, por tanto, la concentración de O<sub>2</sub> disminuye mientras que la del CO<sub>2</sub> aumenta (Gill y Molin, 1991).

La vida útil y la calidad de la carne de vacuno fresca están fuertemente influidas por la calidad inicial de la carne, el envasado y las condiciones de almacenamiento (Zhao *et al.*, 1994).

En las carnes frescas, la ausencia de O<sub>2</sub> causa pérdidas del color rojo característico de la carne (Ranken, 2003) siendo de color púrpura, puesto que la reducción del oxígeno, unida a la baja permeabilidad del film del envasado a este gas, provoca un cambio de color de la carne (López y Casp, 2004).

Varios estudios han revelado un cambio en la prevalencia de la microflora predominante en los productos cárnicos envasados a vacío comparados con aquellos presentes antes del almacenamiento (Björkroth *et al.*, 1998; Samelis *et al.*, 2000). La

flora bacteriana es gradualmente seleccionada hacia microorganismos tolerantes al CO<sub>2</sub>, aunque crece de manera lenta (Borch *et al.*, 1996). Las BAL dominan la microflora en los envasados a vacío y con CO<sub>2</sub> (Blixt y Borch, 2002; Borch y Molin, 1988; Erichsen y Molin, 1981; Holzpfel *et al.*, 1995; Stiles, 1996) en carne de cerdo y de vacuno (Blixt y Borch, 2002). La microflora típica de los productos cárnicos frescos envasados a vacío almacenados en frío, consiste en BAL y *Enterobacteriaceae* a niveles de 10<sup>8</sup> y 10<sup>6</sup> UFC/g, respectivamente (Sutherland *et al.*, 1975). Las BAL dominan la microflora durante el almacenamiento de carne fresca envasada a vacío o en atmósfera modificada o en carne procesada en un ambiente con un valor bajo de pH y/o actividad de agua, que no permite el crecimiento de *Pseudomonas* spp. (Istrati *et al.*, 2011). Este cambio microbiológico podría resultar en algunas modificaciones de las propiedades sensoriales y podría afectar al valor nutricional y a la composición química de los productos (Summo *et al.*, 2006). Además, las sustancias resultantes del metabolismo de las BAL (ácido láctico, diacetilo, acetoína, etc) confieren a la carne un aroma que se denomina “vacuum packed meat odour” (aroma a carne envasada a vacío). Bajo este término, se incluyen los aromas que no son claramente desagradables y por otra parte, se disipan rápidamente al abrir el envase (López y Casp, 2004).

En cuanto a la autooxidación de las grasas, es obvio que será mínima dado que es un proceso dependiente del oxígeno (López y Casp, 2004).

La carne de vacuno envasada a vacío puede tener una vida útil de 10-12 semanas a 0 °C, hasta que el *flavor* de la carne llega a ser inaceptable (Egan, 1983).

La miel ha sido evaluada para su uso como un antimicrobiano frente al deterioro de los alimentos y los microorganismos patógenos (García *et al.*, 2001; Mothershaw y Jaffer, 2004; Mundo *et al.*, 2004; Taormina *et al.*, 2001). El crecimiento de microorganismos asociados a infecciones o enfermedades puede ser inhibido por la miel (Molan, 1992a, b). Además, la miel es efectiva *in vitro* contra infecciones causadas por bacterias que incluyen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enterica* Ser. Typhimurium. (Cooper *et al.*, 2002; Willix *et al.*, 1992). Por otro lado, algunos de los componentes que aparecen de manera natural en la miel contribuyen a su capacidad antioxidante (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b). Estos compuestos son flavonoides, ácidos fenólicos, enzimas (glucosa oxidasa, catalasa), ácido ascórbico, carotenoides, ácidos orgánicos, productos de la reacción de Maillard,

aminoácidos y proteínas (Aljadi y Kamaruddin, 2004; Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Beretta *et al.*, 2005; Blasa *et al.*, 2006; D'Arcy, 2005; Estevinho *et al.*, 2008; Fahey y Stephenson, 2002; Frankel *et al.*, 1998; Gheldof *et al.*, 2002, 2003; Inoue *et al.*, 2005; McKibben y Engeseth, 2002; Nagai *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2007; Vela *et al.*, 2007).

Por todo ello, en este capítulo, se ha estudiado el posible efecto beneficioso (antioxidante y antimicrobiano) del empleo de distintas mieles sobre la vida útil de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada a 4 °C.

## **5.2. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **5.2.1. Muestras.**

Falda de ternera picada (músculo *Cutaneous trunci*) se obtuvo en un supermercado. El porcentaje medio de grasa fue de un  $17,96 \pm 1,25\%$  (capítulo 4, apartado 4.3.1).

Las mieles utilizadas fueron mieles de mielato artesanales: M12 y M45. La miel M12, en forma deshidratada [(D)] se añadió a carne picada en un 5, 10 y 15% (p/p). La miel M45, en forma líquida [(L)] o (D), se añadió en un 15% (p/p) (Figura 5.1). Las muestras se envasaron a vacío en bolsas de plástico de 20/80  $\mu\text{m}$  (Rilthene L) y se almacenaron a 4 °C, durante 14 días para aquellas con miel M12 (D) y 21 días para las muestras con miel M45 (L) o (D) (Figura 5.1). Las muestras se analizaron a tiempos 0, 7 y 14 días para el caso de aquellas con miel M12 (D) y además de éstos, a 3 y 21 días para las muestras con miel M45 (L) o (D).

### **5.2.2. Preparación de miel en polvo o deshidratada.**

Se prepararon en forma deshidratada las mieles M12 y M45 siguiendo la metodología del apartado 4.2.2 del capítulo 4.

### **5.2.3. Análisis físico-químicos de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración.**

#### **5.2.3.1. Medida de los valores de pH de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de pH de las distintas muestras (Figura 5.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.4.1 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **5.2.3.2. Medida del color de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los parámetros del color L\* (luminosidad), a\* (tendencia al rojo), b\* (tendencia al amarillo), Chroma o C\* (saturación) y Hue o H\*(tono) de las distintas muestras (Figura 5.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.4.3 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **5.2.4. Medida de la oxidación lipídica de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de las distintas muestras (Figura 5.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.5 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **5.2.5. Análisis microbiológico de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración.**

Se realizaron recuentos en placa de microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y bacterias ácido lácticas (BAL) de las distintas muestras (Figura 5.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.6 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

### 5.2.6. Análisis de compuestos volátiles de las muestras envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración.

Se analizaron los compuestos volátiles de las distintas muestras (Figura 5.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.7 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

### 5.2.7. Análisis estadístico.

Para cada parámetro las medias fueron comparadas mediante la prueba t-Student con el programa Excel (versión 2002). Las diferencias fueron consideradas significativas para  $p < 0,05$ .

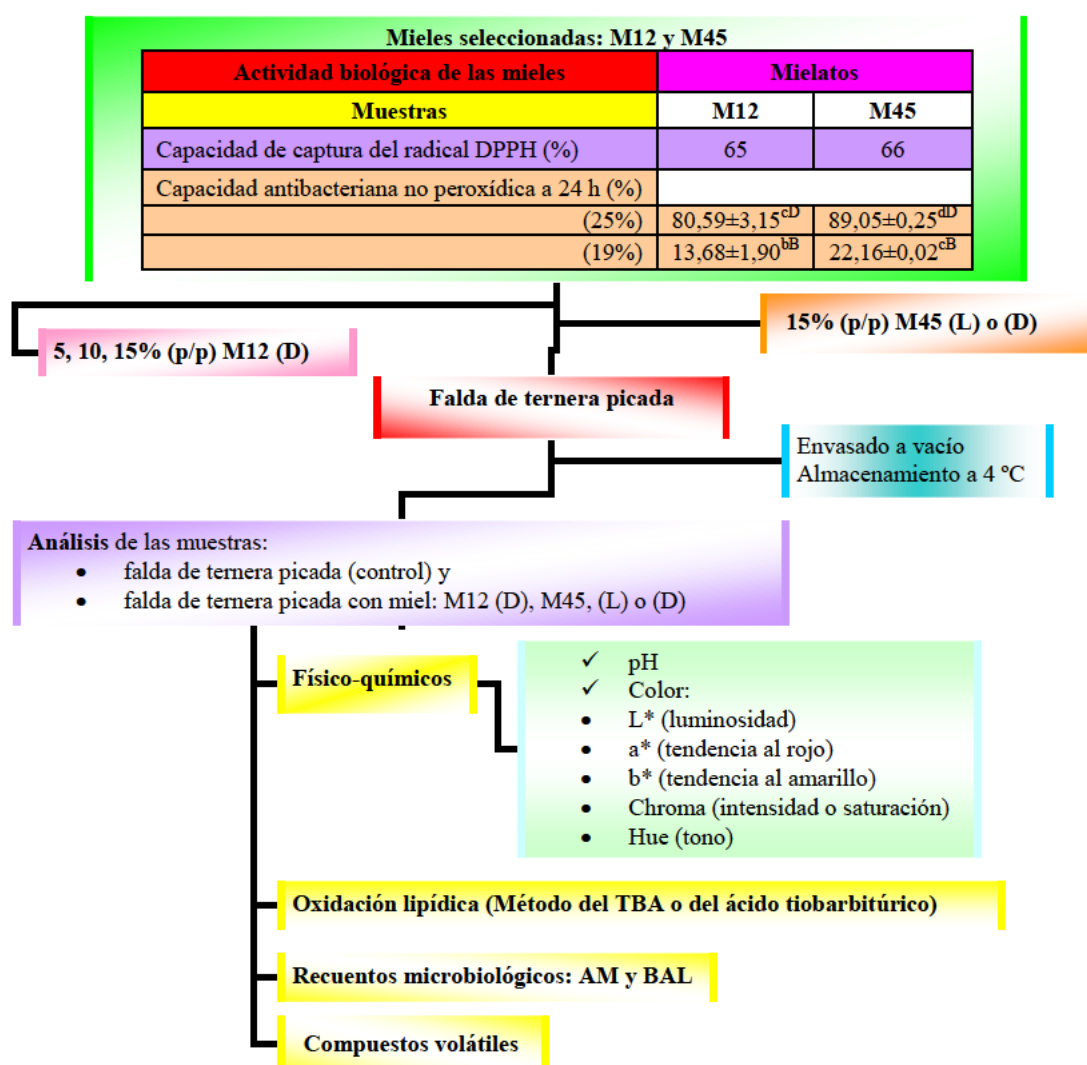


Figura 5.1. Esquema de metodología utilizada en este capítulo.

### **5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

#### **5.3.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración.**

##### **5.3.1.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el valor de pH de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración.**

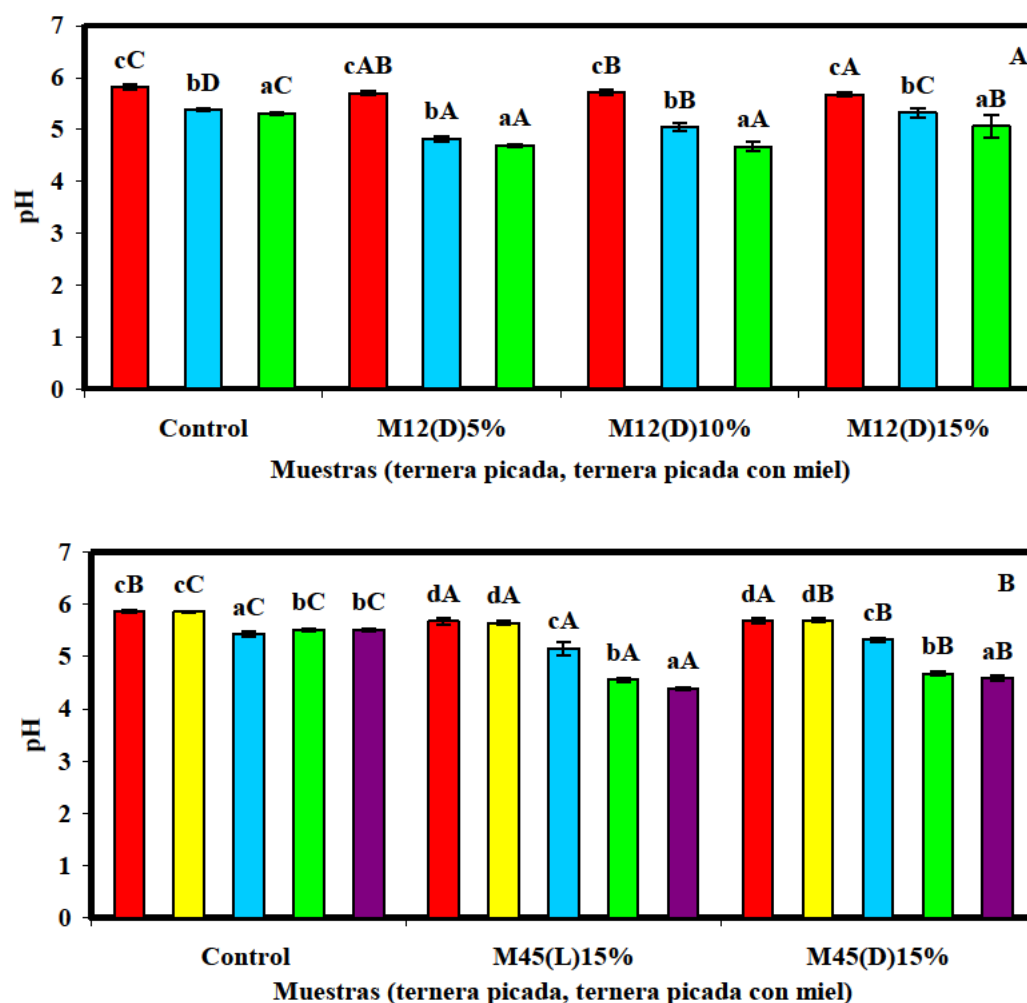
En general, los valores de pH evaluados en las muestras de ternera picada (control) y en aquellas con distintos porcentajes (5, 10 o 15% p/p) de miel (M12 y M45), disminuyeron con el tiempo de almacenamiento a 4 °C (Figura 5.2). Esta disminución en el tiempo también la observaron Blixt y Borch (2002) en carne de cerdo y de vacuno. Además, Istrati *et al.* (2011) mostraron este comportamiento en carne de vacuno así como con distintos tratamientos aplicados (marinados con distintas especias, miel, condimentos vegetales, sal y pimienta) durante los primeros días de almacenamiento. El envasado a vacío determina el mantenimiento de valores de pH bajos, siendo probablemente una de las causas la disociación de los ácidos orgánicos, como los ácidos láctico y acético, acumulados en el tejido muscular (Istrati *et al.*, 2011).

En lo referente al empleo de las mieles, se observó que disminuyó los valores de pH respecto al control a los 0 días debido al propio pH de la mieles de mielato en forma líquida (4,53-4,83) (capítulo 3, apartado 3.3.1) y durante el tiempo del estudio (Figura 5.2). Así, las muestras con miel alcanzaron valores de pH próximos a 5 el día 7 del almacenamiento y menores de 5 a tiempos largos de conservación (14 y 21 días) (Figura 5.2). La disminución del valor de pH con el tiempo al añadir la miel podría deberse al crecimiento microbiano, ya que según Blixt y Borch (2002), la glucosa es el principal sustrato de las bacterias ácido lácticas y diversos autores (Álvarez-Suárez *et al.*, 2010b; Pérez, 2002; Shin y Ustunol, 2005; Terrab *et al.*, 2003) mencionan que la miel está compuesta principalmente por fructosa (38%) y glucosa (31%).

Sin embargo, en otros estudios de conservación con el empleo de sustancias con carácter antioxidante, no se ha observado esta disminución de los valores de pH, entre ellos, Suman *et al.* (2010) que publicaron un aumento de los valores de pH en carne picada de vacuno con el empleo de quitosano y Seydim *et al.* (2006) que no



percibieron efecto alguno sobre los valores de pH de carne picada de avestruz con la adición de oleoresina de romero.



**Figura 5.2.** Efecto del empleo de distintos porcentajes (5, 10 y 15%, p/p) de mieles de mielato (A) M12 y (B) M45, en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de pH de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

### 5.3.1.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el color de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración.

En general, los parámetros del color determinados en ternera picada (control) envasada a vacío, no mostraron grandes variaciones durante el tiempo de almacenamiento a 4 °C (Tablas 5.1 y 5.2). Así, la luminosidad (valor  $L^*$ ) permaneció estable, la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) y al amarillo (valor  $b^*$ ) así como la intensidad de color (valor  $C^*$ ) disminuyeron ligeramente y hubo un aumento de la tendencia al pardeamiento (valor  $H^*$ ) (Tablas 5.1 y 5.2). Otros autores también observaron

variaciones del color durante el tiempo de almacenamiento, como Viana *et al.* (2005) que publicaron una disminución de los valores de luminosidad en lomos de carne de cerdo, mientras que por el contrario Suman *et al.* (2010) observaron un aumento de este parámetro en carne de vacuno picada.

Por otro lado, la tendencia al rojo ha sido utilizada como un indicador de la estabilidad en la carne y los productos cárnicos (García *et al.*, 2004). Nuestros resultados no coinciden con los de Martínez *et al.* (2006) que no observaron diferencias en los valores  $a^*$  de salchichas de cerdo durante el almacenamiento. Además, en las muestras con distintos porcentajes (5, 10 o 15%, p/p) de las diferentes mieles de mielato, se observó una disminución de los parámetros del color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$  y un aumento de la tendencia al pardeamiento (valor  $H^*$ ) con el tiempo de conservación, excepto los valores  $L^*$  que permanecieron estables en las muestras con un 5% (p/p) de la miel M12 y un 15% (p/p) de la miel M45, (L) o (D) (Tablas 5.1 y 5.2).

En cuanto al efecto de la miel sobre el color de la carne, se esperó que cambiara debido al propio color de la miel, ya que en forma líquida estas mieles de mielato son oscuras. En general, se observó que la adición de miel disminuyó la luminosidad (valor  $L^*$ ), la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) y al amarillo (valor  $b^*$ ), así como la intensidad de color (valor  $C^*$ ), mientras que aumentó el pardeamiento (valor  $H^*$ ) respecto al control durante el período de almacenamiento, por lo que el empleo de miel no mostró una mejora del color de la carne de vacuno envasada a vacío, de hecho lo empeoró (Tablas 5.1 y 5.2). Por el contrario, en otros estudios de conservación con el empleo de diversas sustancias, Seydim *et al.* (2006) si observaron un efecto protector con la adición de oleoresina de romero sobre el color de la carne picada de avestruz mientras que Resurrección y Reynolds (1990) no observaron efecto con el empleo de sustancias como tocoferol, extracto de romero o su combinación y BHA/BHT a salchichas de carne de pollo y de cerdo.

**Tabla 5.1.** Efecto del empleo de un 5, 10 y 15% (p/p) de miel de mielato (M12) en forma deshidratada [(D)] sobre los valores de color L\* (luminosidad) a\* (rojo), b\* (amarillo), Chroma o C\* (intensidad) y Hue o H\* (tono) de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante 14 días.

	Tiempo (días)	Control	M12(D)5%	M12(D)10%	M12(D)15%
<b>L*</b>	0	56,47±3,13 <sup>aB</sup>	53,62±3,80 <sup>aA</sup>	56,59±4,35 <sup>bB</sup>	56,24±3,83 <sup>bB</sup>
	7	56,05±2,48 <sup>aB</sup>	53,17±5,82 <sup>aA</sup>	58,56±3,90 <sup>bC</sup>	55,15±4,07 <sup>bAB</sup>
	14	59,65±2,69 <sup>bD</sup>	56,35±6,70 <sup>aC</sup>	49,50±2,88 <sup>aA</sup>	52,13±5,53 <sup>aB</sup>
<b>a*</b>	0	15,78±1,86 <sup>bB</sup>	16,25±2,93 <sup>cB</sup>	12,72±3,64 <sup>bA</sup>	11,27±1,86 <sup>bA</sup>
	7	17,87±2,22 <sup>cC</sup>	13,19±2,24 <sup>bB</sup>	11,75±1,21 <sup>bA</sup>	13,53±2,07 <sup>cB</sup>
	14	13,86±2,22 <sup>aC</sup>	7,29±2,17 <sup>aA</sup>	8,60±0,88 <sup>aB</sup>	8,02±2,10 <sup>aAB</sup>
<b>b*</b>	0	19,87±1,43 <sup>bB</sup>	19,84±1,55 <sup>cB</sup>	17,23±2,24 <sup>bA</sup>	16,69±1,97 <sup>bA</sup>
	7	20,37±1,34 <sup>bC</sup>	17,52±1,79 <sup>bA</sup>	19,36±1,35 <sup>cB</sup>	19,46±1,76 <sup>cBC</sup>
	14	18,87±1,88 <sup>aB</sup>	14,59±2,05 <sup>aA</sup>	14,20±0,55 <sup>aA</sup>	14,56±1,84 <sup>aA</sup>
<b>C*</b>	0	25,40±2,03 <sup>bB</sup>	25,72±2,69 <sup>cB</sup>	21,49±3,87 <sup>bA</sup>	20,20±2,13 <sup>bA</sup>
	7	27,13±2,27 <sup>cC</sup>	21,95±2,65 <sup>bA</sup>	22,69±1,22 <sup>bAB</sup>	23,73±2,35 <sup>cB</sup>
	14	23,45±2,60 <sup>aB</sup>	16,37±2,63 <sup>aA</sup>	16,62±0,65 <sup>aA</sup>	16,71±2,18 <sup>aA</sup>
<b>H*</b>	0	51,64±2,65 <sup>bA</sup>	50,99±4,44 <sup>aA</sup>	54,30±4,88 <sup>aB</sup>	55,99±4,74 <sup>aB</sup>
	7	48,86±2,61 <sup>aA</sup>	53,24±2,96 <sup>aB</sup>	58,72±3,34 <sup>bD</sup>	55,31±3,30 <sup>aC</sup>
	14	53,83±3,27 <sup>cA</sup>	63,97±5,08 <sup>bC</sup>	58,84±2,77 <sup>bB</sup>	61,35±5,93 <sup>bBC</sup>

\*Prueba t-Student. Para cada parámetro, los valores en columnas (letras minúsculas) y en filas (letras mayúsculas) seguidos con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 5.2.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de color, L\*(luminosidad), a\* (rojo), b\* (amarillo), Chroma o C\*(intensidad) y Hue o H\*(tono) de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante 21 días.

	Tiempo (días)	Control	M45(L)15%	M45(D)15%
<b>L*</b>	0	63,35±5,14 <sup>bc</sup>	50,36±3,57 <sup>aA</sup>	57,85±6,42 <sup>bB</sup>
	3	55,04±8,44 <sup>aA</sup>	56,86±5,09 <sup>bA</sup>	58,04±6,46 <sup>abA</sup>
	7	61,58±4,15 <sup>bB</sup>	54,27±3,82 <sup>bA</sup>	53,46±5,18 <sup>aA</sup>
	14	62,61±4,63 <sup>bc</sup>	51,65±2,13 <sup>aA</sup>	56,90±4,19 <sup>bB</sup>
	21	61,58±5,22 <sup>bB</sup>	53,20±7,49 <sup>abA</sup>	55,71±2,82 <sup>abA</sup>
<b>a*</b>	0	13,30±2,75 <sup>bB</sup>	12,86±2,65 <sup>cB</sup>	8,62±2,28 <sup>bA</sup>
	3	17,73±3,12 <sup>dC</sup>	10,93±4,00 <sup>bcB</sup>	8,50±2,38 <sup>bA</sup>
	7	15,20±2,37 <sup>cB</sup>	11,38±2,30 <sup>cA</sup>	10,46±2,71 <sup>cA</sup>
	14	13,51±3,25 <sup>bcC</sup>	9,44±1,47 <sup>bB</sup>	8,35±1,93 <sup>bA</sup>
	21	10,00±3,09 <sup>aB</sup>	6,89±1,70 <sup>aA</sup>	6,25±1,07 <sup>aA</sup>
<b>b*</b>	0	19,26±2,12 <sup>bB</sup>	17,88±2,50 <sup>cdAB</sup>	16,54±2,60 <sup>bcA</sup>
	3	20,73±3,79 <sup>bB</sup>	18,83±2,92 <sup>dB</sup>	16,05±1,84 <sup>bcA</sup>
	7	19,77±1,87 <sup>bC</sup>	16,64±1,97 <sup>bcB</sup>	15,29±1,23 <sup>bA</sup>
	14	20,09±1,96 <sup>bB</sup>	16,01±1,35 <sup>abA</sup>	16,37±1,65 <sup>cA</sup>
	21	16,11±2,04 <sup>aB</sup>	15,32±1,20 <sup>aB</sup>	13,96±0,95 <sup>aA</sup>
<b>C*</b>	0	23,50±2,81 <sup>bB</sup>	22,09±3,19 <sup>cB</sup>	18,71±3,11 <sup>bA</sup>
	3	27,32±4,62 <sup>cC</sup>	22,01±3,68 <sup>cB</sup>	18,34±1,41 <sup>bA</sup>
	7	24,98±2,65 <sup>bcB</sup>	20,20±2,70 <sup>cA</sup>	18,64±2,11 <sup>bA</sup>
	14	24,29±3,22 <sup>bB</sup>	18,60±1,82 <sup>bA</sup>	18,41±2,27 <sup>bA</sup>
	21	19,07±3,09 <sup>aC</sup>	16,90±0,93 <sup>aB</sup>	15,32±1,12 <sup>aA</sup>
<b>H*</b>	0	55,60±4,95 <sup>cA</sup>	54,45±4,47 <sup>aA</sup>	62,72±4,51 <sup>bB</sup>
	3	49,34±3,51 <sup>aA</sup>	60,30±8,35 <sup>bB</sup>	62,10±8,48 <sup>bcB</sup>
	7	52,59±3,32 <sup>bA</sup>	55,85±3,80 <sup>aB</sup>	56,11±6,49 <sup>aB</sup>
	14	56,55±4,80 <sup>cA</sup>	59,60±2,51 <sup>bB</sup>	63,30±3,68 <sup>bc</sup>
	21	58,89±6,33 <sup>cA</sup>	65,75±6,44 <sup>cB</sup>	65,98±3,38 <sup>cB</sup>

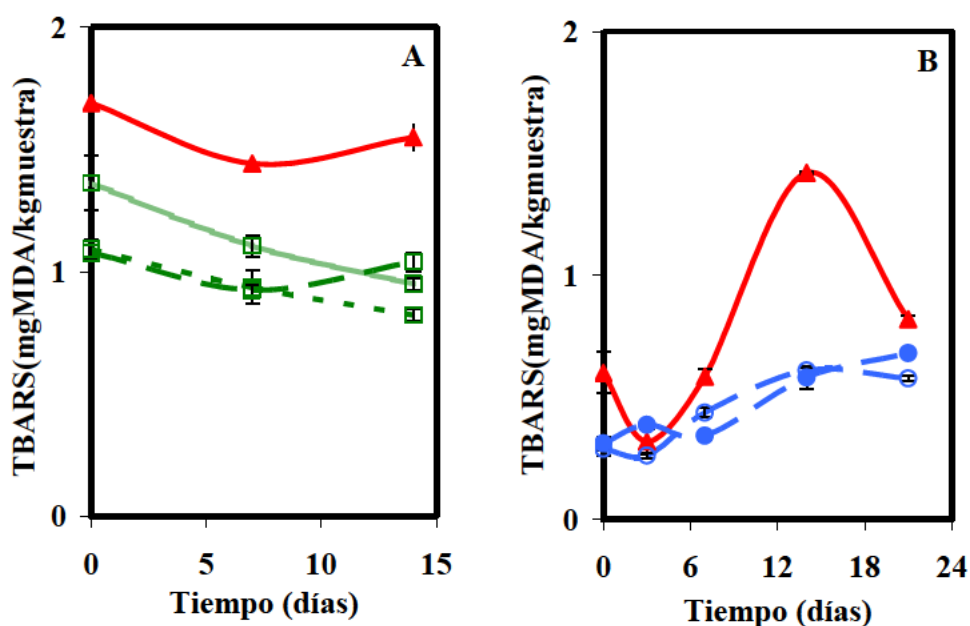
\*Prueba t-Student. Para cada parámetro, los valores en columnas (letras minúsculas) y en filas (letras mayúsculas) seguidos con letras distintas, son significativamente diferentes (p<0,05).

### 5.3.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración.

Los valores TBARS (mg MDA/ kg muestra) evaluados en ternera picada envasada a vacío (control), mostraron variaciones durante el tiempo de almacenamiento a 4 °C sin seguir una tendencia clara (Figura 5.3). Según Antony *et al.* (2006) los valores de TBA de la carne tienden a incrementarse durante el período de almacenamiento, alcanzando un valor máximo y a continuación disminuyen. Este comportamiento se ha atribuido a reacciones de malondialdehído con constituyentes de

la carne tales como grupos amino de aminoácidos o moléculas de ADN (Antony *et al.*, 2006; Shahidi, 1992). Martínez *et al.* (2006) observaron que la oxidación lipídica aumentaba con el incremento del tiempo de almacenamiento en salchichas de cerdo envasadas a vacío, mientras que Suman *et al.* (2010) no observaron estos cambios en muestras envasadas a vacío de carne de vacuno así como con quitosano añadido.

En general, en nuestro estudio, el empleo de distintos porcentajes (5, 10 o 15%, p/p) de miel (M12 y M45), ejerció un efecto antioxidante en ternera picada envasada a vacío durante el almacenamiento (Figura 5.3). La inhibición de la oxidación lipídica para la conservación de la carne mediante el empleo de otras sustancias con carácter antioxidante (oleoresina de romero, tocoferol, BHA/BHT, marinados que incluyen vino rojo seco, miel de tilo, sal, especias y condimentos vegetales como tomillo, mejorana y ajo) también ha sido descrita por otros autores (Istrati *et al.*, 2011; Resurrección y Reynolds, 1990; Seydim *et al.*, 2006).



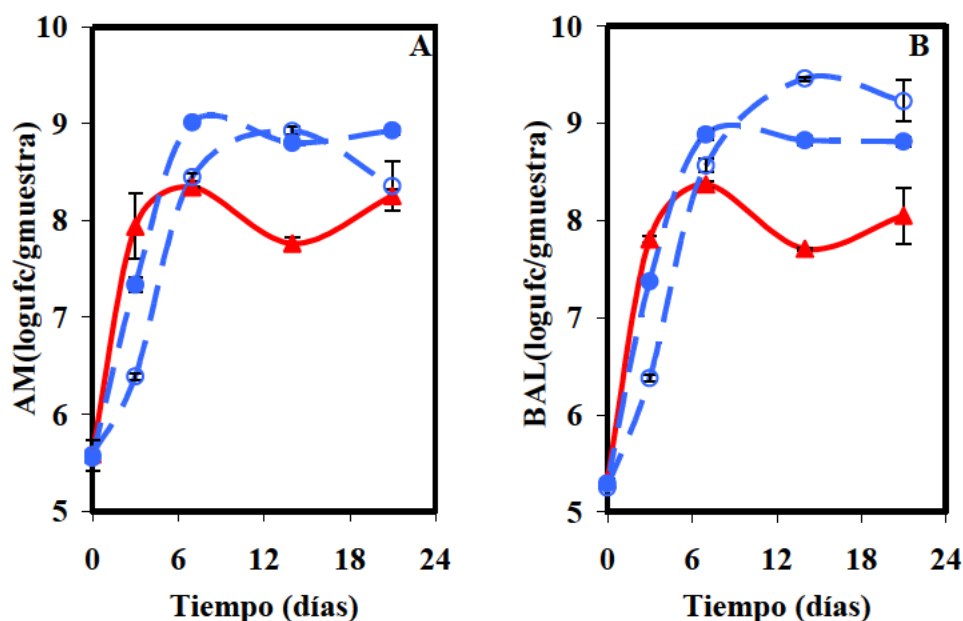
**Figura 5.3.** Efecto del empleo de distintos porcentajes (5, 10 y 15%, p/p) de mieles de mielato (A) M12 (■) y (B) M45 (●), en forma líquida (símbolo cerrado) o deshidratada (símbolo abierto), sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada (control) (▲) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante 21 días. 5 (.), 10 (--) y 15% (—).

### **5.3.3. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la carga microbiana de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración.**

En general, el número de ufc/g muestra de AM y BAL evaluado en muestras de ternera picada (control) y en aquellas con un 15% (p/p) de miel (M45), aumentaron durante el almacenamiento a 4 °C (Figura 5.4). Nuestros resultados coinciden con Istrati *et al.* (2011) que observaron un incremento de los recuentos de AM de carne de vacuno almacenada a 4 °C durante 48 horas de almacenamiento. Por el contrario, estos autores observaron que en muestras de carne de vacuno con marinado de vino, miel, ajo, pimienta y sal, estos recuentos disminuyeron.

En cuanto al efecto del empleo de la miel de mielato, se observó que ejerció un papel antibacteriano sobre los recuentos de AM y BAL respecto al control a los 3 días de conservación, mostrando un efecto mayor en forma deshidratada (Figura 5.4). Sin embargo, a partir del 7º día del estudio, las muestras con miel presentaron recuentos superiores a los obtenidos en ternera picada (control) (Figura 5.4).

A los 14 días de almacenamiento, los recuentos de AM de la muestra control, así como aquellas con un 15% (p/p) de las mieles, M12 (D) ( $8,06 \pm 0,31$  log ufc/g muestra) y M45, (L) y (D), fueron similares. Sin embargo, los recuentos de BAL ( $7,97 \pm 0,05$  log ufc/g muestra) de las muestras con un 15% (p/p) de la miel M12 (D) fueron superiores a los del control e inferiores a los obtenidos en las muestras con la miel M45, (L) y (D). Al igual que en nuestro estudio, Seydim *et al.* (2006) observaron que la adición de oleoresina de romero no tuvo un efecto significativo sobre el crecimiento microbiano en carne picada de avestruz. Sin embargo, Istrati *et al.* (2001) observaron que la adición de tomillo, mejorana y rábano en el marinado base (vino, miel, ajo, pimienta y sal) añadido a carne de vacuno, resultó en una disminución más pronunciada de AM y BAL comparado con los marinados sin especias ni condimentos vegetales.



**Figura 5.4.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) (—), en forma líquida (●) o deshidratada (○), sobre los recuentos de (A) microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y (B) bacterias ácido lácticas (BAL) de falda de ternera picada (control) (▲) envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante 21 días.

#### 5.3.4. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración.

Los compuestos volátiles más representativos observados en ternera picada envasada a vacío (control) y almacenada a 4 °C durante 21 días fueron acetona, 2-butanona, etanol, hexanal, 1-pentanol y ácido acético (Figura 5.5 y Tabla 5.3). En general, los compuestos acetona, hexanal y 1-pentanol disminuyeron alrededor de 25 veces ( $\times 25$ ) durante los 21 días de almacenamiento, mostrando unas áreas de pico máximas de  $67,96 \times 10^6$  UA (unidades arbitrarias),  $42,75 \times 10^6$  UA y  $28,64 \times 10^6$  UA, respectivamente (Figura 5.5, Tabla 5.3). Mientras, los compuestos 2-butanona ( $46,35 \times 10^6$  UA,  $\times 37$ ), etanol ( $73,16 \times 10^6$  UA,  $\times 7$ ) y ácido acético ( $53,44 \times 10^6$  UA,  $\times 10$ ) aumentaron con el tiempo de conservación (Figura 5.5, Tabla 5.3).

Por tanto, el perfil volátil de falda de ternera picada envasada a vacío cambió durante el almacenamiento a 4 °C (Figura 5.5, Tabla 5.3). Cambios en los compuestos volátiles durante el almacenamiento en refrigeración pueden mostrar deterioro químico, microbiano o enzimático en carne (Vinauskiene *et al.*, 2002).

Las cetonas de cadena recta (Belitz y Grosch, 1997), los alcoholes de cadena recta (Forss, 1972) y el aldehído hexanal (Frankel *et al.*, 1984; Shahidi y Pegg, 1994b) proceden de la oxidación lipídica (Belitz y Grosch, 1997; Forss, 1972; Frankel *et al.*, 1984; Shahidi y Pegg, 1994b). Por otro lado, el ácido acético tiene su origen principalmente en el metabolismo microbiano de glúcidos (Kandler, 1983) y algunos alcoholes de bajo peso molecular, como etanol, 2-butanol, y alcoholes de cadena ramificada, la mayoría proceden de las fermentaciones microbianas (Kandler, 1983; Sunesen *et al.*, 2001). Además, la producción de 2-butanona y otras “metilcetonas” ha sido asociada con la  $\beta$ -oxidación de la actividad del crecimiento de mohos en la superficie de productos curados (Sunesen y Stahnke, 2003).

Por tanto, en falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada en refrigeración, disminuyeron los compuestos volátiles procedentes de la oxidación lipídica (acetona, hexanal y los alcoholes de cadena recta 1-pentanol y 1-hexanol) y aumentaron aquellos derivados de la actividad microbiana (2-butanona, etanol y ácido acético) con el tiempo de almacenamiento (Figura 5.5, Tabla 5.3).

Por otro lado, las cetonas, especialmente las 2-cetonas, tienen una gran influencia sobre el aroma del queso, carne y productos cárnicos cuando se presentan en grandes cantidades y tienen aromas característicos a etéreo, mantequilla, especias o queso azul (Lecanu *et al.*, 2002; Novelli *et al.*, 1995). Sin embargo, los aldehídos tienen un gran impacto sobre el aroma del producto debido a que poseen umbrales de olor bajos (Muriel *et al.*, 2004). Exhiben aromas característicos como mantequilla, dulce, floral, tostado o a verde (Belitz y Grosch, 1997; Stahnke, 1998). Por otro lado, Croizet *et al.* (1992) publicaron niveles de etanol altos en salchichas francesas curadas que no contribuían significativamente al aroma del producto. Finalmente, los ácidos de cadena corta (< 6 átomos de carbono) tienen un efecto importante en el desarrollo del aroma debido a sus olores característicos descritos como vinagre, queso o pepino (Stahnke, 1995b) y sus bajos valores umbrales de olor (Belitz y Grosch, 1997).

En cuanto al efecto del empleo de distintos porcentajes (5, 10 y 15%, p/p) de la miel M12 (D) el compuesto observado con un área de pico mayor fue ácido acético (Figura 5.6, Tabla 5.3).



Con el empleo de un 5% (p/p) de esta miel el compuesto acetona ( $24,50 \cdot 10^6$  UA, x24) disminuyó durante el estudio mientras que hexanal y 1-pentanol permanecieron estables (Figura 5.6.A, Tabla 5.3). Sin embargo, la señal de los compuestos etanol (alrededor de  $80 \cdot 10^6$  UA, x10), 2,3-butanodiona ( $11,41 \cdot 10^6$  UA, x11) y ácido acético ( $274,25 \cdot 10^6$  UA, x145), aumentó con el tiempo de conservación (Figura 5.6.A, Tabla 5.3).

Con la adición de un 10% (p/p) de la miel de mielato, los compuestos acetona ( $83,29 \cdot 10^6$  UA, x10), hexanal ( $42,55 \cdot 10^6$  UA, x13) y 1-pentanol ( $28,20 \cdot 10^6$  UA, x6) disminuyeron durante el almacenamiento (Figura 5.6.B, Tabla 5.3). Por el contrario, los valores de etanol ( $53,81 \cdot 10^6$  UA, x9), 2,3-butanodiona ( $8,66 \cdot 10^6$  UA, x9) y ácido acético ( $231,47 \cdot 10^6$  UA, x63) aumentaron durante la conservación (Figura 5.6.B, Tabla 5.3).

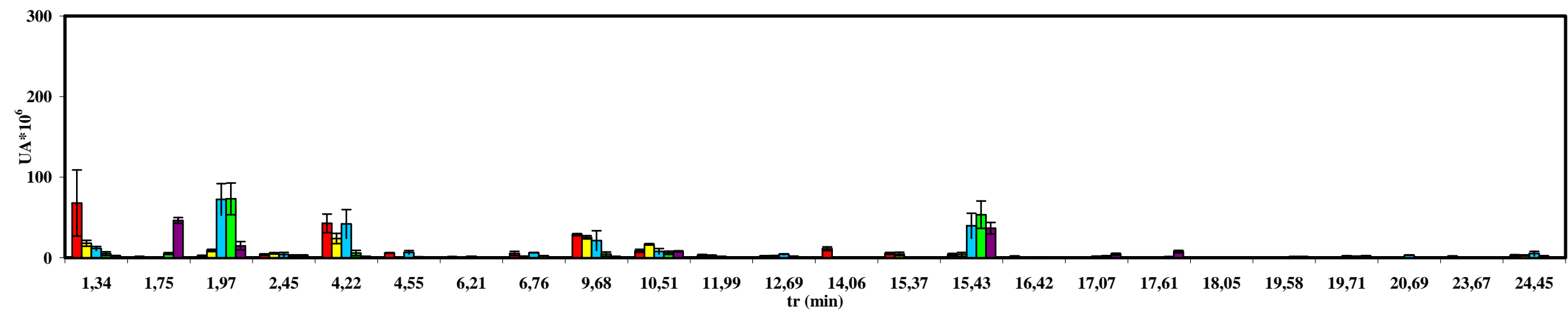
Con el empleo de un 15% (p/p) de la misma miel, el compuesto acetona ( $26,64 \cdot 10^6$  UA) disminuyó durante la primera semana y aumentó (x3) durante la segunda (Figura 5.6.C, Tabla 5.3). El compuesto 1-pentanol ( $6,32 \cdot 10^6$  UA) disminuyó (x1,4), mientras que la señal de hexanal ( $3,60 \cdot 10^6$  UA) no mostró variación durante los 14 días de envasado a vacío en refrigeración (Figura 5.6.C, Tabla 5.3). Sin embargo, los valores de los compuestos 2,3-butanodiona ( $6,53 \cdot 10^6$  UA, x6), etanol ( $32,76 \cdot 10^6$  UA, x5) y ácido acético ( $212,38 \cdot 10^6$  UA, x150) aumentaron durante el tiempo del estudio (Figura 5.6.C, Tabla 5.3). Los compuestos etanol y ácido acético pueden derivar del catabolismo de la glucosa de las BAL heterofermentativas (Kandler, 1983) y de la conversión microbiana de treonina (Ardö, 2006). Los alcoholes de cadena recta proceden de la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados (Forss, 1972).

En lo referente al empleo de un 15% (p/p) de la miel M45, (L) o (D), el compuesto con mayor área observado fue 3-hidroxi-2-butanona (Figura 5.7, Tabla 5.3). Además, con la adición de esta miel, el compuesto acetona (de  $20,00$  a  $30,00 \cdot 10^6$  UA) disminuyó durante el almacenamiento, tanto con la forma (L) (x21) como con la (D) (x4) (Figura 5.7, Tabla 5.3). Los compuestos hexanal y 1-pentanol mostraron valores bajos (Figura 5.7, Tabla 5.3). Sin embargo, los valores de la señal de 2-butanona (alrededor de  $50,00 \cdot 10^6$  UA, x50), etanol (alrededor de  $60,00 \cdot 10^6$  UA, x13) y 3-hidroxi-2-butanona (alrededor de  $163,00 \cdot 10^6$  UA, x13), aumentaron durante el tiempo de conservación (Figura 5.7, Tabla 5.3). También el valor del compuesto 2,3-

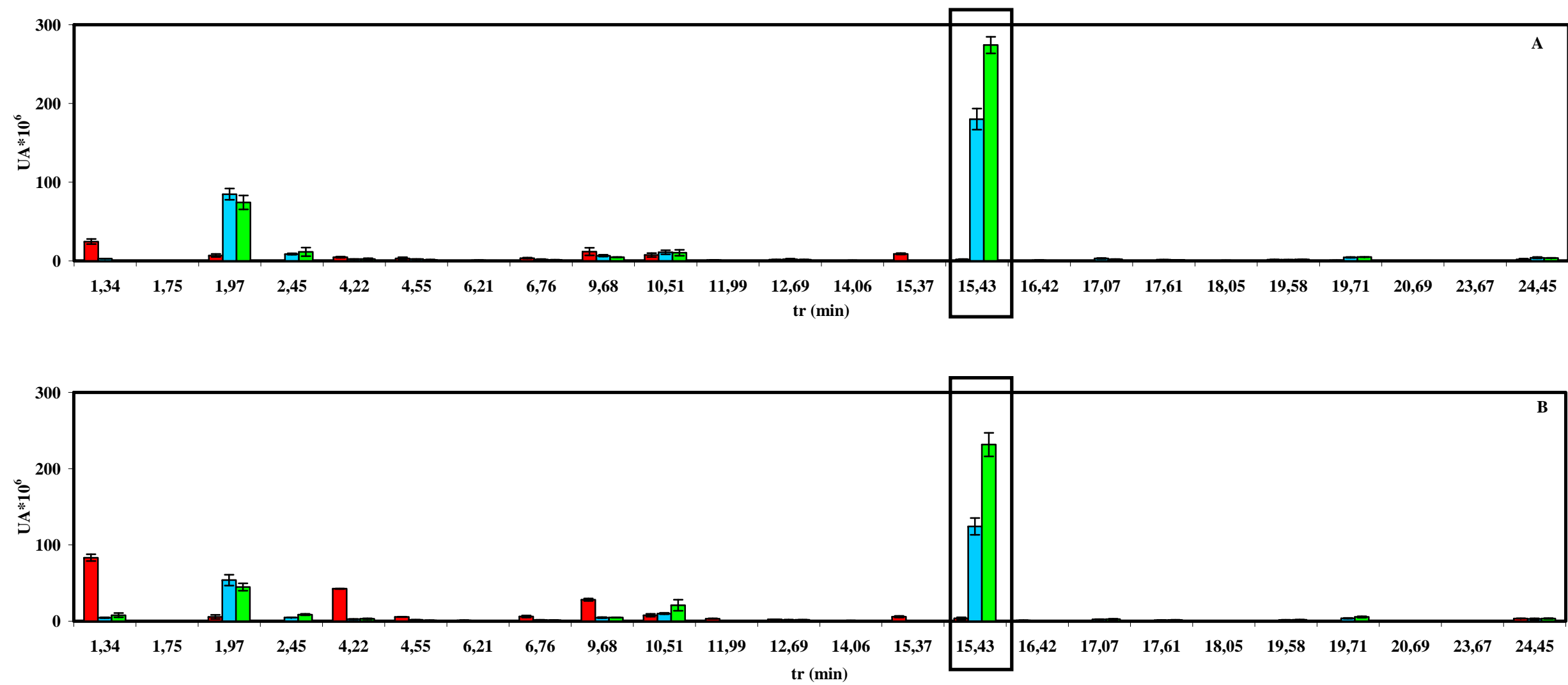
butanodiona (alrededor de  $27,00 \cdot 10^6$  UA) se incrementó tanto con la forma (L) (x16) como con la (D) (x26) (Figura 5.7, Tabla 5.3).

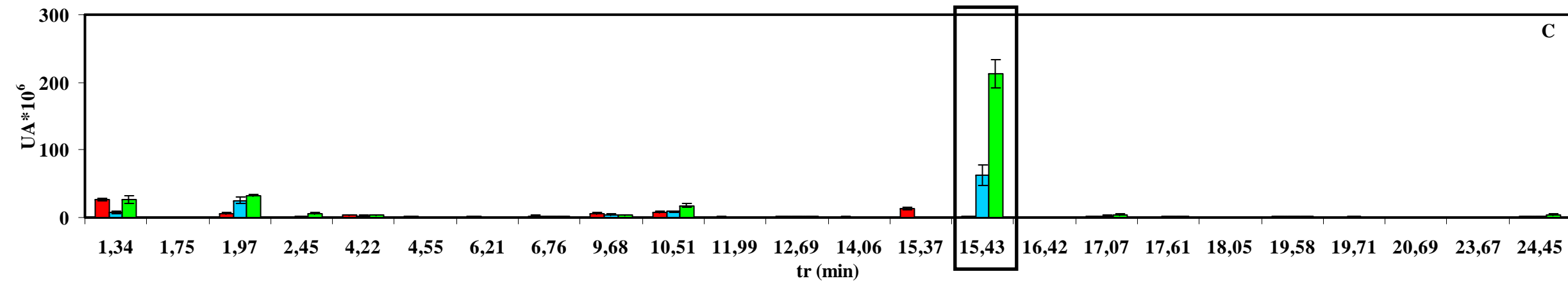
Por tanto, el empleo de distintos porcentajes (5, 10 y 15%, p/p) de la miel M12 (D) aumentó la señal de los compuestos etanol y ácido acético procedentes del metabolismo microbiano y disminuyó los valores de los compuestos relacionados con la oxidación lipídica como acetona, hexanal y los alcoholes 1-pentanol y 1-hexanol (Figura 5.6, Tabla 5.3), por lo que la principal ruta degradativa sería la microbiana. Por otro lado, la adición de la miel M45, (L) o (D), aumentó la señal de compuestos procedentes del metabolismo microbiano como 2-butanona, etanol, 2,3-butanodiona y disminuyó los valores de compuestos procedentes de la oxidación lipídica como hexanal, 1-pentanol y 1-hexanol (Figura 5.6, Tabla 5.3). En cuanto al compuesto 3-hidroxi-2-butanona, Pérez *et al.* (2008) lo relacionan con la oxidación mientras que otros autores consideran que puede proceder del metabolismo microbiano (Ardö, 2006; Kandler, 1983; Leroy *et al.*, 2009). En el estudio del envasado a vacío 3-hidroxi-2-butanona alcanzó valores similares a etanol a los 7 días y aumentó sobre todo a tiempos largos de conservación (14 y 21 días). Además, en condiciones de vacío, la autooxidación de las grasas es obvio que será mínima dado que es un proceso dependiente del oxígeno (López y Casp, 2004). Por tanto, la principal ruta de degradación con el empleo de miel M45 (L) o (D) fue la microbiana.

Al igual que en las muestras de nuestro estudio, autores como Muriel *et al.* (2004) observaron que en lomos de cerdo ibérico curado hubo un predominio de compuestos volátiles procedentes del metabolismo microbiano o de las especias, tales como etanol, ácido acético y 2-butanona, sobre compuestos derivados de la oxidación lipídica como los aldehídos. Además, Stetzer *et al.* (2008) observaron en distintos músculos de carne de vaquilla mejoradas con fosfato y sal y envasadas a vacío a 4 °C durante 7 o 14 días y congeladas (48 h), que los compuestos afectados por la mejora y la maduración incluyeron entre otros compuestos, 3-hidroxi-2-butanona, 1-octen-3-ol y los ácidos butanóico y hexanóico, compuestos asociados a menudo con la oxidación lipídica. Al contrario que en los resultados obtenidos con la adición de la miel M45, (L) o (D), Stetzer *et al.* (2008) observaron que la mejora disminuía el compuesto 3-hidroxi-2-butanona y al igual que en nuestros resultados, el compuesto hexanal disminuyó con la mejora.

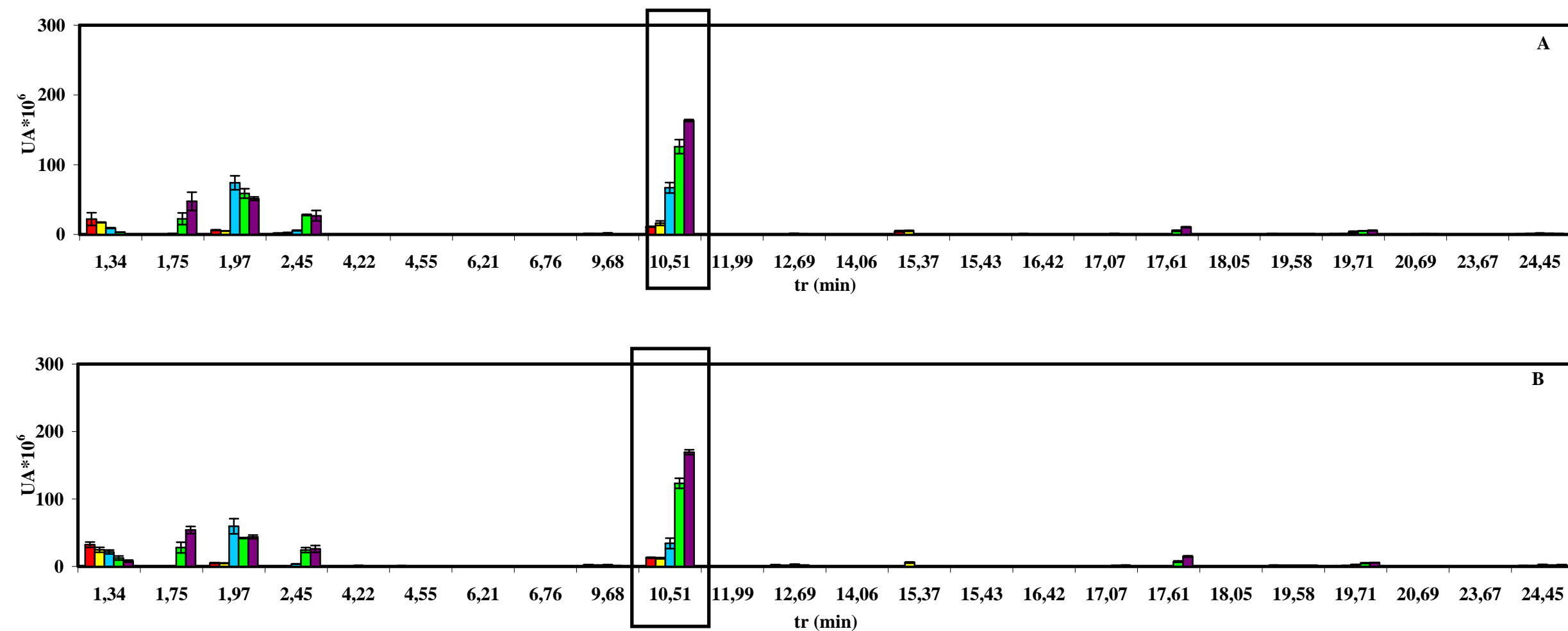


**Figura 5.5.** Compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada a vacío y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. tr, min: 1,34 (acetona), 1,75 (2-butanona), 1,97 (etanol), 2,45 (2,3-butanodiona), 4,22 (hexanal), 9,68 (1-pentanol), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona), 15,43 (ácido acético).





**Figura 5.6.** Compuestos volátiles de falda de ternera picada con miel de mielato (M12) añadida al (A) 5% (p/p), (B) 10% (p/p) y (C) 15% (p/p) en forma deshidratada, envasadas a vacío y almacenadas a 4 °C durante (■) 0, (■) 7 y (■) 14 días. tr, min: 1,34 (acetona), 1,75 (2-butanona), 1,97 (etanol), 2,45 (2,3-butanodiona), 4,22 (hexanal), 9,68 (1-pentanol), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona), 15,43 (ácido acético).



**Figura 5.7.** Perfil volátil de falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida (A) y deshidratada (B) envasadas a vacío y almacenadas a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. tr, min: 1,34 (acetona), 1,75 (2-butanona), 1,97 (etanol), 2,45 (2,3-butanodiona), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona).

**Tabla 5.3. a.** Efecto del empleo de un 5, 10 o 15% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre el perfil volátil de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada 4 °C durante 14 o 21 días.

	Muestra	Control	M12(D)5%	M12(D)10%	M12(D)15%	M45(L)15%	M45(D)15%	Control	M45(L)15%	M45(D)15%	Control	M12(D)5%	M12(D)10%	M12(D)15%	M45(L)15%	M45(D)15%
	Tiempo (días)	0	0	0	0	0	0	3	3	3	7	7	7	7	7	7
Compuesto	tr (min)															
Acetona	1,34	67,96±41,08 <sup>eAB</sup>	24,50±3,27 <sup>bA</sup>	83,29±4,41 <sup>bB</sup>	27,15±2,07 <sup>bA</sup>	21,96±9,05 <sup>abca</sup>	32,20±3,91 <sup>cA</sup>	17,87±3,70 <sup>dA</sup>	17,28±0,47 <sup>cA</sup>	24,64±3,71 <sup>bca</sup>	11,59±2,40 <sup>cC</sup>	2,78±0,14 <sup>aA</sup>	4,60±0,47 <sup>aB</sup>		9,17±0,53 <sup>bC</sup>	21,52±2,85 <sup>bD</sup>
2-butanona	1,75	1,23±0,44 <sup>a</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1,30±0,09 <sup>a</sup>	-----
Etanol	1,97	2,10±0,92 <sup>aA</sup>	6,88±2,05 <sup>aAB</sup>	5,60±2,65 <sup>aAB</sup>	6,59±0,49 <sup>aB</sup>	6,18±0,46 <sup>bB</sup>	5,22±0,70 <sup>aA</sup>	8,94±1,46 <sup>bB</sup>	5,05±0,34 <sup>aA</sup>	4,97±0,34 <sup>aA</sup>	72,36±19,67 <sup>cBC</sup>	84,80±7,14 <sup>bC</sup>	53,81±7,21 <sup>bB</sup>	25,37±5,12 <sup>bA</sup>	74,07±10,10 <sup>cC</sup>	59,52±11,32 <sup>bBC</sup>
2,3-butano-diona	2,45	3,99±0,85 <sup>abB</sup>	-----	-----	-----	1,64±0,45 <sup>aA</sup>	-----	5,43±0,90 <sup>bB</sup>	2,40±0,54 <sup>aA</sup>	-----	4,11±2,38 <sup>abABC</sup>	8,67±0,82 <sup>aC</sup>	4,89±0,14 <sup>aB</sup>	2,06±0,54 <sup>aA</sup>	5,69±0,48 <sup>bB</sup>	3,62±0,29 <sup>aA</sup>
Hexanal	4,22	42,75±11,55 <sup>bB</sup>	4,60±0,83 <sup>aA</sup>	42,55±0,32 <sup>bB</sup>	3,08±0,17 <sup>aA</sup>	-----	-----	23,74±6,29 <sup>bB</sup>	0,64±0,03 <sup>aA</sup>	-----	42,04±17,88 <sup>bD</sup>	2,23±0,08 <sup>aC</sup>	2,78±0,25 <sup>aC</sup>	2,10±1,22 <sup>aABC</sup>	0,50±0,08 <sup>aA</sup>	1,22±0,04 <sup>B</sup>
2-metil-1-propanol	4,55	5,89±0,38 <sup>bB</sup>	3,10±1,59 <sup>abAB</sup>	5,69±0,21 <sup>cB</sup>	1,65±0,36 <sup>A</sup>	-----	0,99±0,09 <sup>bA</sup>	-----	-----	0,45±0,02 <sup>a</sup>	6,71±2,14 <sup>abAB</sup>	2,27±0,08 <sup>bB</sup>	1,95±0,05 <sup>bA</sup>	-----	-----	-----
1-butanol	6,21	1,12±0,40 <sup>aA</sup>	-----	1,14±0,10 <sup>bA</sup>	0,98±0,17 <sup>bA</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	1,67±0,05 <sup>aB</sup>	0,76±0,18 <sup>aA</sup>	-----	-----	-----	-----
1-penten-3-ol	6,76	5,27±2,59 <sup>abAB</sup>	3,46±0,65 <sup>bAB</sup>	6,24±1,28 <sup>bB</sup>	2,16±0,78 <sup>aA</sup>	-----	-----	1,58±0,41 <sup>aA</sup>	-----	0,37±0,03 <sup>A</sup>	6,18±0,40 <sup>bB</sup>	1,92±0,34 <sup>aA</sup>	1,51±0,29 <sup>aA</sup>	1,42±0,36 <sup>aA</sup>	-----	-----
1-pentanol	9,68	28,64±1,36 <sup>bD</sup>	11,81±4,83 <sup>aC</sup>	28,20±1,60 <sup>bD</sup>	6,32±0,91 <sup>aC</sup>	1,34±0,17 <sup>bA</sup>	2,54±0,22 <sup>abB</sup>	25,29±2,07 <sup>bC</sup>	1,02±0,11 <sup>bA</sup>	1,93±0,31 <sup>abB</sup>	21,30±12,17 <sup>bC</sup>	6,52±1,19 <sup>aB</sup>	4,69±0,65 <sup>aB</sup>	4,55±0,49 <sup>aB</sup>	1,56±0,65 <sup>abA</sup>	2,43±0,30 <sup>bA</sup>
3-hidroxi-2-butanona	10,51	8,48±1,88 <sup>aAB</sup>	7,41±2,35 <sup>aABC</sup>	7,74±1,88 <sup>aA</sup>	8,15±1,37 <sup>aA</sup>	11,18±0,50 <sup>aB</sup>	13,00±0,70 <sup>aC</sup>	16,59±0,81 <sup>bB</sup>	16,29±3,22 <sup>aAB</sup>	12,16±0,86 <sup>aA</sup>	7,98±3,45 <sup>aA</sup>	10,84±2,65 <sup>aA</sup>	10,00±0,98 <sup>abA</sup>	9,20±0,92 <sup>aA</sup>	66,93±7,45 <sup>bC</sup>	34,23±7,77 <sup>bB</sup>
2-metil-3-octanona	11,99	2,91±1,17 <sup>aB</sup>	0,99±0,27 <sup>A</sup>	3,29±0,45 <sup>B</sup>	0,84±0,33 <sup>A</sup>	-----	-----	2,14±1,28 <sup>ab</sup>	-----	-----	1,33±0,48 <sup>a</sup>	-----	-----	-----	-----	-----
1-hexanol	12,69	2,09±0,56 <sup>aAB</sup>	1,60±0,24 <sup>aA</sup>	2,31±0,05 <sup>bB</sup>	2,02±0,26 <sup>aB</sup>	-----	2,31±0,23 <sup>bCB</sup>	2,07±0,70 <sup>aAB</sup>	0,25±0,04 <sup>aA</sup>	1,52±0,05 <sup>aB</sup>	4,19±0,58 <sup>bC</sup>	2,14±0,67 <sup>aAB</sup>	1,74±0,28 <sup>aA</sup>	1,60±0,18 <sup>aA</sup>	1,15±0,50 <sup>aA</sup>	2,96±0,39 <sup>cB</sup>
3,5-octadien-2-ol	14,06	11,12±2,20 <sup>bB</sup>	0,26±0,07 <sup>aA</sup>	-----	0,71±0,29 <sup>aA</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	0,35±0,09 <sup>aA</sup>	0,62±0,18 <sup>bAB</sup>	0,85±0,18 <sup>B</sup>	0,45±0,15 <sup>aAB</sup>	-----	-----
1-octen-3-ol	15,37	5,31±1,29 <sup>aA</sup>	8,93±0,82 <sup>B</sup>	5,86±1,07 <sup>A</sup>	13,16±2,58 <sup>B</sup>	4,53±1,00 <sup>aA</sup>	-----	4,65±2,18 <sup>aA</sup>	5,22±0,78 <sup>aA</sup>	5,71±0,86 <sup>A</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Ácido acético	15,43	3,63±1,65 <sup>aC</sup>	1,87±0,51 <sup>aC</sup>	3,65±1,58 <sup>aC</sup>	1,41±0,54 <sup>aBC</sup>	0,42±0,01 <sup>aA</sup>	0,36±0,07 <sup>aAB</sup>	4,28±2,42 <sup>aA</sup>	0,36±0,03 <sup>aA</sup>	0,38±0,05 <sup>aA</sup>	39,71±15,57 <sup>bA</sup>	180,10±13,41 <sup>bC</sup>	124,14±11,01 <sup>bB</sup>	62,79±15,89 <sup>bA</sup>	-----	-----
2-etil-1-hexanol	16,42	1,47±0,71 <sup>aA</sup>	-----	1,08±0,28 <sup>aA</sup>	-----	0,76±0,28 <sup>A</sup>	-----	-----	-----	-----	0,88±0,11 <sup>aAB</sup>	0,88±0,13 <sup>aB</sup>	0,54±0,11 <sup>aAB</sup>	0,49±0,09 <sup>A</sup>	-----	-----
Benzaldehído	17,07	-----	-----	-----	2,01±0,51 <sup>a</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	1,69±0,23 <sup>aA</sup>	3,07±0,66 <sup>aB</sup>	2,53±0,13 <sup>aB</sup>	2,65±0,37 <sup>aB</sup>	-----	-----
Ác. propiónico	17,61	0,43±0,03 <sup>aA</sup>	0,49±0,13 <sup>aAB</sup>	0,55±0,18 <sup>aAB</sup>	0,65±0,10 <sup>aB</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	0,69±0,11 <sup>bA</sup>	1,44±0,10 <sup>cB</sup>	1,30±0,40 <sup>bAB</sup>	0,96±0,21 <sup>aA</sup>	-----	-----
1-octanol	18,05	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,48±0,01 <sup>a</sup>	-----	-----	0,60±0,05 <sup>bA</sup>	0,49±0,28 <sup>A</sup>	-----	-----	-----	-----
Butirolactona	19,58	-----	1,50±0,19 <sup>aA</sup>	-----	2,31±0,22 <sup>aB</sup>	1,10±0,11 <sup>bA</sup>	1,86±0,39 <sup>aAB</sup>	0,42±0,02 <sup>aA</sup>	0,92±0,01 <sup>bB</sup>	1,65±0,10 <sup>aC</sup>	0,79±0,27 <sup>bA</sup>	1,44±0,21 <sup>aB</sup>	1,59±0,22 <sup>aB</sup>	1,91±0,30 <sup>aB</sup>	0,76±0,02 <sup>aA</sup>	1,57±0,03 <sup>aB</sup>
Ác. butanóico	19,71	0,63±0,08 <sup>aA</sup>	0,72±0,10 <sup>aAB</sup>	0,61±0,08 <sup>aAB</sup>	-----	0,86±0,04 <sup>aBC</sup>	0,98±0,04 <sup>aC</sup>	0,51±0,02 <sup>aA</sup>	1,02±0,02 <sup>bB</sup>	1,10±0,11 <sup>aB</sup>	1,83±0,68 <sup>bA</sup>	4,36±0,57 <sup>bC</sup>	3,80±0,54 <sup>bBC</sup>	2,09±0,55 <sup>A</sup>	3,33±1,32 <sup>abcABC</sup>	2,71±0,45 <sup>bAB</sup>
ác. 3-metil-butanóico	20,69	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	3,16±0,32 <sup>bB</sup>	-----	-----	-----	0,69±0,18 <sup>aA</sup>	-----
2,4-deca-dienal	23,67	1,70±0,53 <sup>A</sup>	0,14±0,06 <sup>A</sup>	-----	0,17±0,07 <sup>A</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Ác. hexanóico	24,45	2,74±0,95 <sup>bCD</sup>	1,88±1,07 <sup>aABCD</sup>	3,54±0,15 <sup>aD</sup>	1,73±0,54 <sup>aBC</sup>	0,72±0,07 <sup>aA</sup>	1,07±0,23 <sup>aAB</sup>	2,98±0,60 <sup>bB</sup>	1,22±0,29 <sup>abAB</sup>	1,04±0,26 <sup>aA</sup>	5,21±2,74 <sup>bB</sup>	4,01±0,86 <sup>aB</sup>	2,93±0,84 <sup>aAB</sup>	2,25±0,50 <sup>aA</sup>	1,66±0,44 <sup>abA</sup>	2,41±0,50 <sup>bAB</sup>

\*Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas) los valores en filas seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05).

**Tabla 5.3. b.** Efecto del empleo de un 5, 10 o 15% (p/p) de mieles de mielato (M12 y M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre el perfil volátil de falda de ternera picada (Control) envasada a vacío y almacenada 4 °C durante 14 o 21 días.

	Muestra	Control	M12(D)5%	M12(D)10%	M12(D)15%	M45(L)15%	M45(D)15%	Control	M45(L)15%	M45(D)15%
	Tiempo (días)	14	14	14	14	14	14	21	21	21
Compuesto	tr (min)									
Acetona	1,34	5,05±2,19 <sup>bA</sup>	-----	7,88±2,80 <sup>aAB</sup>	26,64±5,42 <sup>bC</sup>	3,28±0,17 <sup>aA</sup>	12,44±2,99 <sup>aB</sup>	2,62±0,11 <sup>aA</sup>	-----	7,99±1,53 <sup>aB</sup>
2-butanona	1,75	5,20±1,06 <sup>bA</sup>	-----	-----	-----	22,36±8,37 <sup>bB</sup>	27,97±7,95 <sup>aB</sup>	46,35±3,55 <sup>cA</sup>	47,46±13,07 <sup>bA</sup>	53,96±5,23 <sup>bA</sup>
Etanol	1,97	73,66±19,62 <sup>cC</sup>	74,37±8,87 <sup>bC</sup>	44,71±4,83 <sup>bB</sup>	32,76±0,79 <sup>bA</sup>	58,82±6,72 <sup>cC</sup>	42,10±0,77 <sup>bB</sup>	14,82±5,09 <sup>abA</sup>	51,21±2,54 <sup>cB</sup>	43,82±2,82 <sup>bB</sup>
2,3-butanodiona	2,45	2,44±1,06 <sup>aA</sup>	11,41±5,47 <sup>aAB</sup>	8,66±0,98 <sup>bB</sup>	6,53±0,15 <sup>bB</sup>	28,00±0,84 <sup>cC</sup>	24,29±3,59 <sup>bC</sup>	2,80±0,75 <sup>aA</sup>	26,86±7,46 <sup>cB</sup>	25,99±4,88 <sup>bB</sup>
Hexanal	4,22	5,81±3,22 <sup>aA</sup>	2,33±0,98 <sup>aA</sup>	3,10±0,61 <sup>aA</sup>	3,60±0,50 <sup>aA</sup>	-----	-----	1,70±0,07 <sup>a</sup>	-----	-----
2-metil-1-propanol	4,55	1,02±0,16 <sup>aA</sup>	1,37±0,34 <sup>aA</sup>	1,09±0,22 <sup>aA</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	-----
1-butanol	6,21	-----	0,56±0,06 <sup>aA</sup>	0,59±0,11 <sup>aA</sup>	0,52±0,02 <sup>aA</sup>	-----	-----	-----	-----	-----
1-penten-3-ol	6,76	2,36±0,19 <sup>aB</sup>	1,42±0,18 <sup>abA</sup>	1,27±0,03 <sup>aA</sup>	1,25±0,03 <sup>aA</sup>	-----	-----	-----	-----	-----
1-pentanol	9,68	4,65±2,51 <sup>aAB</sup>	4,67±0,32 <sup>aB</sup>	4,78±0,29 <sup>aB</sup>	4,43±0,21 <sup>aB</sup>	0,48±0,10 <sup>aA</sup>	0,72±0,59 <sup>aA</sup>	1,14±0,53 <sup>a</sup>	-----	-----
3-hidroxi-2-butanona	10,51	6,07±2,12 <sup>aA</sup>	10,29±3,75 <sup>aAB</sup>	20,99±7,28 <sup>bB</sup>	17,25±2,81 <sup>bB</sup>	125,86±10,16 <sup>cC</sup>	123,25±7,49 <sup>cC</sup>	7,97±0,52 <sup>aA</sup>	163,29±1,46 <sup>dB</sup>	169,32±3,64 <sup>dB</sup>
2-metil-3-octanona	11,99	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
1-hexanol	12,69	1,35±0,58 <sup>aB</sup>	1,59±0,25 <sup>aB</sup>	1,81±0,04 <sup>aB</sup>	2,06±0,26 <sup>aB</sup>	0,56±0,18 <sup>aA</sup>	1,75±0,26 <sup>abB</sup>	-----	-----	-----
3,5-octadien-2-ol	14,06	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
1-octen-3-ol	15,37	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Ácido acético	15,43	53,44±16,90 <sup>bA</sup>	274,25±10,49 <sup>cC</sup>	231,47±15,35 <sup>cB</sup>	212,38±20,49 <sup>cB</sup>	-----	-----	36,65±7,23 <sup>b</sup>	-----	-----
2-etil-1-hexanol	16,42	0,54±0,11 <sup>aA</sup>	0,58±0,04 <sup>aA</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Benzaldehído	17,07	2,08±0,58 <sup>aBC</sup>	2,02±0,20 <sup>aC</sup>	2,56±0,61 <sup>aBC</sup>	4,47±0,76 <sup>bD</sup>	1,13±0,05 <sup>AB</sup>	1,20±0,09 <sup>aA</sup>	4,40±1,09 <sup>bB</sup>	-----	1,51±0,58 <sup>aA</sup>
Ác. Propiónico	17,61	0,90±0,55 <sup>abA</sup>	1,22±0,05 <sup>bA</sup>	1,65±0,27 <sup>abB</sup>	2,02±0,17 <sup>bB</sup>	5,35±0,81 <sup>aC</sup>	7,11±0,95 <sup>aC</sup>	7,61±1,42 <sup>cA</sup>	10,45±0,63 <sup>bB</sup>	14,75±0,98 <sup>bC</sup>
1-octanol	18,05	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Butirolactona	19,58	1,18±0,33 <sup>bcA</sup>	1,75±0,09 <sup>aBC</sup>	1,75±0,29 <sup>aBC</sup>	2,27±0,30 <sup>aC</sup>	0,90±0,04 <sup>bA</sup>	1,59±0,17 <sup>aB</sup>	1,33±0,22 <sup>cB</sup>	0,89±0,09 <sup>abA</sup>	1,55±0,19 <sup>aB</sup>
Ác. Butanóico	19,71	1,83±0,30 <sup>bA</sup>	4,89±0,09 <sup>bB</sup>	5,52±0,84 <sup>cBC</sup>	-----	5,20±0,17 <sup>cdC</sup>	4,85±0,58 <sup>cBC</sup>	2,34±0,07 <sup>bA</sup>	5,69±0,39 <sup>dB</sup>	5,70±0,21 <sup>cB</sup>
Ác. 3-metilbutanóico	20,69	0,45±0,08 <sup>aA</sup>	0,53±0,08 <sup>A</sup>	-----	-----	0,77±0,07 <sup>aB</sup>	0,47±0,06 <sup>aA</sup>	-----	0,67±0,13 <sup>aA</sup>	0,59±0,01 <sup>bA</sup>
2,4-decadial	23,67	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Ác. Hexanóico	24,45	1,72±0,76 <sup>abA</sup>	3,67±0,16 <sup>aB</sup>	3,50±0,57 <sup>aB</sup>	4,45±0,51 <sup>bB</sup>	1,43±0,35 <sup>bA</sup>	1,96±0,30 <sup>bA</sup>	1,08±0,03 <sup>aA</sup>	1,14±0,03 <sup>bA</sup>	2,56±0,27 <sup>bB</sup>

\*Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas) los valores en filas seguidos con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

**Capítulo 6: Empleo de miel artesanal  
sobre la conservación de falda de ternera  
picada envasada en atmósfera  
modificada y almacenada en  
refrigeración**





## 6.1. INTRODUCCIÓN.

El envasado en atmósfera modificada (Modified Atmosphere Packaging, MAP) consiste en la eliminación del aire mediante vacío y después de su evacuación, éste es reemplazado por un gas o una mezcla de gases, antes de sellar el envasado (McMillin, 2008). El envasado en atmósfera modificada se utiliza para ampliar la vida útil y entre otros alimentos, de la carne y los productos cárnicos (Esmer *et al.*, 2011; Gill, 1996; Jakobsen y Bertelsen, 2000; Jayasingh *et al.*, 2001; Lambert *et al.*, 1991; Luño *et al.*, 2000; Mano *et al.*, 2002), mejorar su calidad (Esmer *et al.*, 2011; Jakobsen y Bertelsen, 2000) y mantener una apariencia fresca (Gill, 1996; Jayasingh *et al.*, 2001; Lambert *et al.*, 1991; Luño *et al.*, 2000; Mano *et al.*, 2002) almacenados a temperaturas de refrigeración (Esmer *et al.*, 2011).

En general, MAP amplía la vida útil de la carne fresca de una manera significativa, pero se requiere un control de la temperatura y una calidad microbiológica inicial de la materia cruda (García *et al.*, 2004). El propósito de MAP es mantener las propiedades adecuadas de la carne durante el período deseado de almacenamiento y exposición para su venta (McMillin, 2008). El color, la oxidación lipídica y el control

microbiológico son los criterios de calidad más importantes para el almacenamiento de la carne roja fresca (Esmer *et al.*, 2011).

Los envases en atmósfera modificada, generalmente emplean mezclas de dos o tres gases: O<sub>2</sub> (para mejorar la estabilidad del color), CO<sub>2</sub> (para inhibir el crecimiento microbiano) y N<sub>2</sub> (para mantener la forma del envase) (Jakobsen y Bertelsen, 2000; Kerry *et al.*, 2006; Sørheim *et al.*, 1999). Debido a que los consumidores utilizan el color de la carne como un indicador de salubridad, MAP se ha enfocado en encontrar la mezcla correcta de gases para maximizar (Mancini y Hunt, 2005) la estabilidad del color (Esmer *et al.*, 2011; Mancini y Hunt, 2005) y la vida útil (Mancini y Hunt, 2005), además de minimizar o retardar el crecimiento microbiano, la oxidación lipídica (Esmer *et al.*, 2011; Mancini y Hunt, 2005) y el espacio de cabeza gaseoso (Mancini y Hunt, 2005). Se conoce que niveles elevados de CO<sub>2</sub> inhiben el crecimiento bacteriano (Gill y Tan, 1980; Marshall *et al.*, 1991; McMillin, 2008; Wimpfheimer *et al.*, 1990), mientras que niveles elevados de O<sub>2</sub> prolongan la estabilidad del color (Asensio *et al.*, 1988; Bartkowski *et al.*, 1982; Taylor, 1972) y proporcionan un color rojo a la carne (McMillin, 2008). La mayoría de MAP utilizado para la carne fresca ha sido con un ambiente de niveles de O<sub>2</sub> altos (alrededor del 80%) que permite alargar su vida útil lo suficiente para procesar y exponer los productos al consumidor (Eilert, 2005; Zhou *et al.*, 2010). La composición de gases utilizada normalmente para MAP en carnes rojas frescas, concretamente la de vacuno, es un 20-30% de CO<sub>2</sub> y un 70-80% de O<sub>2</sub> (Blakistone, 1998; Esmer *et al.*, 2011; Ferioli *et al.*, 2008; Taylor, 1996). De este modo, por un lado, la concentración alta de O<sub>2</sub> aumenta el color rojo brillante y por otro, el CO<sub>2</sub> inhibe el crecimiento de los microorganismos aerobios del deterioro, asegurando así una vida útil más larga que en el envasado en aire (5-10 días) (Bell, 2001).

Por otro lado, estudios realizados han mostrado una cierta capacidad por parte de la miel de actuar como agente conservante en los procesos oxidativos (Antony *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2000; McKibben y Engeseth, 2002). Además, se ha mostrado que la miel tiene capacidad de actuar como inhibidor del crecimiento microbiano (Willix *et al.*, 1992).

Por todo ello, en este capítulo, se ha estudiado el posible efecto beneficioso (antioxidante y antimicrobiano) del empleo de miel sobre la vida útil de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C.

## **6.2. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **6.2.1. Muestras.**

Falda de ternera picada (músculo *Cutaneous trunci*) se obtuvo en un supermercado. El porcentaje medio de grasa fue de un  $17,96 \pm 1,25\%$  (capítulo 4, apartado 4.3.1).

La miel utilizada fue miel artesanal, M45 (Figura 6.1). La miel de mielato, M45, en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], se añadió a falda de ternera picada en un 15% (p/p) (Figura 6.1). Las muestras se envasaron en atmósfera modificada con un 70% de oxígeno (O<sub>2</sub>) y un 30% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) en bolsas de plástico de 20/80 µm (Rilthene L) y se almacenaron a 4 °C durante 21 días (Figura 6.1). Las muestras se analizaron a 0, 3, 7, 14 y 21 días (Figura 6.1).

### **6.2.2. Preparación de miel en polvo o deshidratada.**

Se preparó en forma deshidratada la miel M45 siguiendo la metodología del apartado 4.2.2 del capítulo 4.

### **6.2.3. Análisis físico-químicos de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración.**

#### **6.2.3.1. Medida de los valores de pH de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de pH de las distintas muestras (Figura 6.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.4.1 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **6.2.3.2. Medida del color de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los parámetros del color L\* (luminosidad), a\* (tendencia al rojo), b\* (tendencia al amarillo), Chroma o C\* (saturación) y Hue o H\* (tono) de las distintas muestras (Figura 6.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.4.3 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **6.2.4. Medida de la oxidación lipídica de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de las distintas muestras (Figura 6.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.5 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **6.2.5. Análisis microbiológico de las muestras envasadas en atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración.**

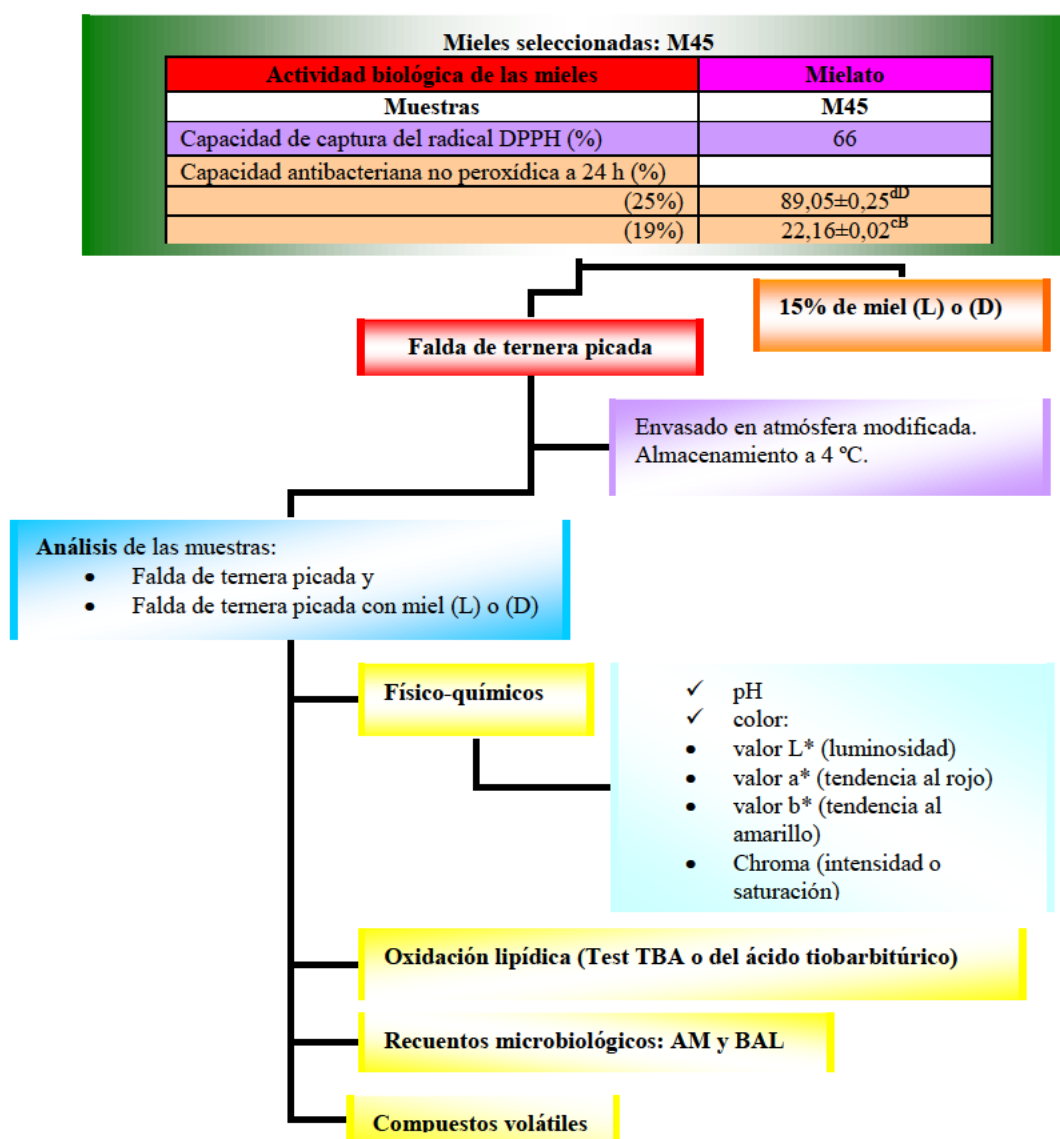
Se realizaron recuentos en placa de microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y bacterias ácido lácticas (BAL) de las distintas muestras (Figura 6.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.6 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **6.2.6. Análisis de compuestos volátiles de las muestras envasadas en atmósfera modificada almacenadas en refrigeración.**

Se analizaron los compuestos volátiles en el espacio de cabeza de las distintas muestras (Figura 6.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.7 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **6.2.7. Análisis estadístico.**

Para cada parámetro las medias fueron comparadas mediante la prueba t-Student con el programa Excel (versión 2002). Las diferencias fueron consideradas significativas para  $p < 0,05$ .



**Figura 6.1.** Esquema de la metodología utilizada en este capítulo.

### 6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

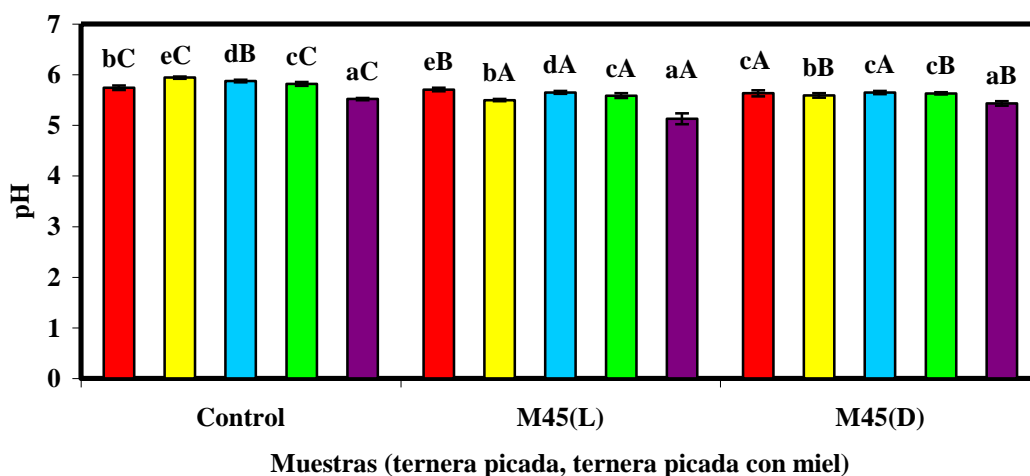
**6.3.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración.**

**6.3.1.1. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el valor de pH de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración.**

Los valores de pH evaluados en las muestras de ternera picada (control) y en aquellas con un 15% (p/p) de miel (M45), envasadas en 70% de O<sub>2</sub> y un 30% de CO<sub>2</sub>

(70%O<sub>2</sub>/30%CO<sub>2</sub>), disminuyeron ligeramente con el tiempo de conservación a 4 °C (Figura 6.1). Sin embargo, no se observó una reducción de los valores de pH en las muestras con miel, tan acusada como en el capítulo 5 (apartado 5.3.1). La disminución del valor de pH también fue observada por Friedrich *et al.* (2008) en carne de vacuno picada envasada en 70%O<sub>2</sub>/30%CO<sub>2</sub> durante el almacenamiento y la asociaron con la adición de ácido láctico. Sin embargo, Suman *et al.* (2010) no observaron efecto del tiempo de almacenamiento sobre los valores de pH de carne de ternera picada.

En cuanto al efecto del empleo de la miel, se observó que disminuyó los valores de pH de las muestras respecto al control a los 0 días, debido al propio pH de la miel de mielato en forma líquida (4,53) (capítulo 3, apartado 3.3.1) y durante los 21 días de almacenamiento (Figura 6.2). Por el contrario, en estudios de conservación con el uso de otras sustancias como quitosano, otros autores como Suman *et al.* (2010) observaron que su adición incrementó el valor de pH de carne picada de vacuno envasada en 80%O<sub>2</sub>/20%CO<sub>2</sub>.



**Figura 6.2.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de pH de falda de ternera picada (Control) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 6.3.1.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre el color de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración.

En general, las muestras de ternera picada (control) y aquellas con un 15% (p/p) de miel (M45) envasadas en 70%O<sub>2</sub>/30%CO<sub>2</sub>, no mostraron variaciones en la

luminosidad (valor  $L^*$ ) durante los 21 días de almacenamiento a 4 °C, excepto aquellas con miel en forma deshidratada, que fueron más claras al final del almacenamiento (Tabla 6.1). Además, en todas las muestras del estudio, la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ), al amarillo (valor  $b^*$ ) y la saturación del color (valor  $C^*$ ) disminuyeron, mientras que la tendencia al pardeamiento (valor  $H^*$ ) aumentó durante el almacenamiento (Tabla 6.1). La disminución de la tendencia al color rojo de nuestra muestra control durante el tiempo de almacenamiento, también se ha observado en otros estudios de conservación de carne de cerdo y de vacuno envasados en concentraciones altas de  $O_2$  (Insausti *et al.*, 2001; Martínez *et al.*, 2006; Viana *et al.*, 2005; Zakrys *et al.*, 2008). Además, John *et al.* (2005) publicaron que los filetes envasados en niveles altos de  $O_2$  tenían un color rojo deseable sobre el 7° día de almacenamiento, pero el pardeamiento fue evidente el día 14 y estaban completamente marrones el día 21. Sin embargo, la estabilidad de la luminosidad (valor  $L^*$ ) observada a lo largo del tiempo en nuestro control, no coincide con la disminución de este valor en carne de cerdo publicada por Viana *et al.* (2005), ni con el aumento de este parámetro en carne de vacuno publicado por otros autores (Insausti *et al.*, 2001; Suman *et al.*, 2010; Zakrys *et al.*, 2008). Además, la disminución de la tendencia al amarillo (valor  $b^*$ ) de ternera picada (control) observada a lo largo de nuestro estudio, tampoco coincide con el aumento de los valores  $b^*$  en carne picada de vacuno envasada en 80% $O_2$ /20% $CO_2$  publicado por Suman *et al.* (2010).

En lo referente al efecto de la adición de miel sobre los parámetros del color de ternera picada (control), se esperó que cambiara al añadir la miel a los 0 días, por el color marrón oscuro de esta miel de mielato en forma líquida (Tabla 6.1). Además, se observó que durante el almacenamiento, en general, la adición de miel M45 (D) no mostró efecto sobre los valores de la luminosidad ( $L^*$ ) y la tendencia al amarillo ( $b^*$ ), mientras que la misma miel en forma líquida, los disminuyó ligeramente respecto al control (Tabla 6.1). También, el empleo de miel disminuyó la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) y la saturación del color (valor  $C^*$ ) y aumentó el pardeamiento (valor  $H^*$ ) respecto al control durante el estudio, excepto a los 21 días que no mostró efecto (Tabla 6.1). La disminución de la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) observada en nuestro estudio con el empleo de la miel, no fue observada por otros autores como Djenane *et al.* (2003), que publicaron que el tratamiento con sustancias como romero y vitamina C sobre filetes de ternera envasados en 70% $O_2$ /20% $CO_2$ /10% $N_2$  resultó en un color rojo intenso, mostrando valores  $a^*$  sobre 18, ni con Suman *et al.* (2010) que mostraron que la adición

de quitosano en carne picada almacenada en 80% O<sub>2</sub>/20% CO<sub>2</sub>, no tenía efecto sobre la tendencia al rojo. Jakobsen y Bertelsen (2000) publicaron que mientras que se necesitaban niveles de O<sub>2</sub> más altos que el 20% para promover la estabilidad del color, los contenidos de O<sub>2</sub> más altos que el 55% no resultaban en un beneficio adicional en esta estabilidad (Mancini y Hunt, 2005). El envasado en atmósfera modificada con niveles altos de O<sub>2</sub> se utiliza para dar estabilidad del color a la carne, pero puede incrementar la oxidación lipídica (Ferioli *et al.*, 2008; Zakrys *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 1994) y disminuir la terneza (Zakrys *et al.*, 2008) influyendo por tanto, en la aceptabilidad y la seguridad del producto (Ferioli *et al.*, 2008).

**Tabla 6.1.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de color L\* (luminosidad), a\* (rojo), b\* (amarillo), Chroma o C\* (saturación) y Hue o H\* (tono) de falda de ternera picada (Control) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante 21 días.

	Tiempo (días)	Control	M45(L)	M45(D)
<b>L*</b>	0	59,39±3,86 <sup>bB</sup>	49,01±3,29 <sup>aA</sup>	50,80±5,42 <sup>aA</sup>
	3	54,22±5,87 <sup>aB</sup>	49,31±5,82 <sup>aA</sup>	51,81±4,19 <sup>aAB</sup>
	7	53,50±3,84 <sup>aB</sup>	50,71±4,32 <sup>aA</sup>	58,67±5,54 <sup>bC</sup>
	14	59,77±5,28 <sup>bB</sup>	54,45±3,49 <sup>bA</sup>	59,44±4,44 <sup>bB</sup>
	21	60,00±3,59 <sup>bB</sup>	51,29±4,82 <sup>aA</sup>	59,35±4,52 <sup>bB</sup>
<b>a*</b>	0	15,98±3,13 <sup>cC</sup>	9,73±2,39 <sup>bA</sup>	13,54±4,49 <sup>dB</sup>
	3	16,14±3,59 <sup>cC</sup>	3,43±1,99 <sup>aA</sup>	7,51±1,23 <sup>cB</sup>
	7	14,84±2,46 <sup>cC</sup>	4,16±1,19 <sup>aA</sup>	5,83±1,44 <sup>bB</sup>
	14	6,12±1,48 <sup>bC</sup>	3,94±0,90 <sup>aA</sup>	5,03±1,23 <sup>abB</sup>
	21	3,92±0,84 <sup>aA</sup>	3,74±1,35 <sup>aA</sup>	4,72±1,79 <sup>aA</sup>
<b>b*</b>	0	19,45±2,16 <sup>cC</sup>	15,52±1,39 <sup>cA</sup>	17,02±0,94 <sup>abB</sup>
	3	17,54±1,64 <sup>bB</sup>	11,71±3,57 <sup>aA</sup>	16,45±1,73 <sup>aB</sup>
	7	16,89±1,93 <sup>bB</sup>	14,31±0,86 <sup>bA</sup>	17,57±2,67 <sup>abB</sup>
	14	15,40±1,86 <sup>aA</sup>	16,31±2,65 <sup>cA</sup>	18,43±2,99 <sup>bB</sup>
	21	17,49±3,47 <sup>bA</sup>	15,84±2,71 <sup>cA</sup>	16,42±1,98 <sup>aA</sup>
<b>C*</b>	0	25,23±3,36 <sup>cC</sup>	18,39±2,13 <sup>dA</sup>	22,00±3,10 <sup>cB</sup>
	3	23,96±3,11 <sup>bcC</sup>	12,25±3,93 <sup>bA</sup>	18,14±1,62 <sup>abB</sup>
	7	22,51±2,95 <sup>bC</sup>	14,94±1,09 <sup>cA</sup>	18,52±2,94 <sup>abB</sup>
	14	16,60±2,17 <sup>aA</sup>	16,80±2,69 <sup>aA</sup>	19,15±2,95 <sup>bB</sup>
	21	17,93±3,52 <sup>aA</sup>	16,35±2,53 <sup>aA</sup>	17,18±1,95 <sup>aA</sup>
<b>H*</b>	0	50,86±3,99 <sup>aA</sup>	58,31±5,44 <sup>aB</sup>	52,60±9,03 <sup>aA</sup>
	3	47,92±6,14 <sup>aA</sup>	74,94±5,30 <sup>bcC</sup>	65,35±4,36 <sup>bB</sup>
	7	48,88±2,77 <sup>aA</sup>	73,97±3,71 <sup>bC</sup>	71,82±2,45 <sup>cB</sup>
	14	68,54±3,44 <sup>bA</sup>	76,39±2,58 <sup>cB</sup>	74,56±4,33 <sup>dB</sup>
	21	77,22±2,09 <sup>cA</sup>	76,23±6,01 <sup>bcA</sup>	74,00±6,23 <sup>cA</sup>

\*Prueba t-Student. Para cada parámetro, los valores en filas (letras mayúsculas) y en columnas (letras minúsculas) seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05).

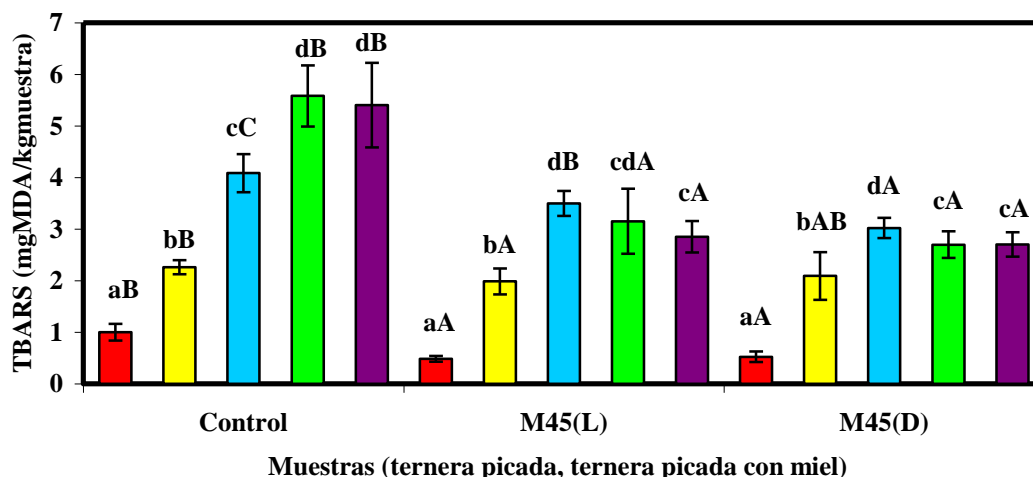


### **6.3.2. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración.**

Los valores TBARS (mg MDA/ kg muestra) evaluados en las muestras de ternera picada (control) y en aquellas con un 15% (p/p) de miel (M45), envasadas en 70%O<sub>2</sub>/30CO<sub>2</sub>, aumentaron durante los 21 días de almacenamiento (Figura 6.3). Este incremento de la oxidación lipídica en carne almacenada en concentraciones elevadas de O<sub>2</sub> ha sido observado por otros autores (Ferioli *et al.*, 2008; Jackson *et al.*, 1992; Jensen *et al.*, 1997; Taylor, 1985; Martínez *et al.*, 2006; Suman *et al.*, 2010; Zakrys *et al.*, 2008), aunque otros no han percibido ningún aumento bajo condiciones similares (Asensio *et al.*, 1988; López *et al.*, 1980; Ordóñez y Ledward, 1977).

Además, las muestras evaluadas alcanzaron valores TBARS superiores a los observados en el envasado a vacío (capítulo 5 apartado 5.3.4). La mayoría de los estudios han indicado que un nivel de O<sub>2</sub> alto aumenta la oxidación lipídica, generalmente en comparación con el envasado a vacío o MAP con niveles de O<sub>2</sub> bajos (Cayuela *et al.*, 2004; John *et al.*, 2004, 2005; McMillin, 2008). Cuando MAP reprime los otros mecanismos del deterioro de la carne, la oxidación lipídica puede actuar como un factor limitante (McMillin, 1993).

En cuanto al efecto del empleo de la miel de mielato sobre ternera picada envasada en 70%O<sub>2</sub>/30CO<sub>2</sub>, se observó que disminuyó los valores TBARS respecto al control a los 3 días en forma líquida y no mostró efecto en forma deshidratada (Figura 6.3). A partir del 7º día la miel ejerció un efecto antioxidante hasta el final del estudio (Figura 6.3). Diversos autores también han observado el efecto antioxidante con la adición de otras sustancias (romero, ácido ascórbico, quitosano, sésamo, ácido elágico y extracto de hoja de oliva) sobre carne de vacuno picada envasada con niveles altos de O<sub>2</sub> (Djenane *et al.*, 2003; Hayes *et al.*, 2010; Suman *et al.*, 2010).



**Figura 6.3.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada (Control) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

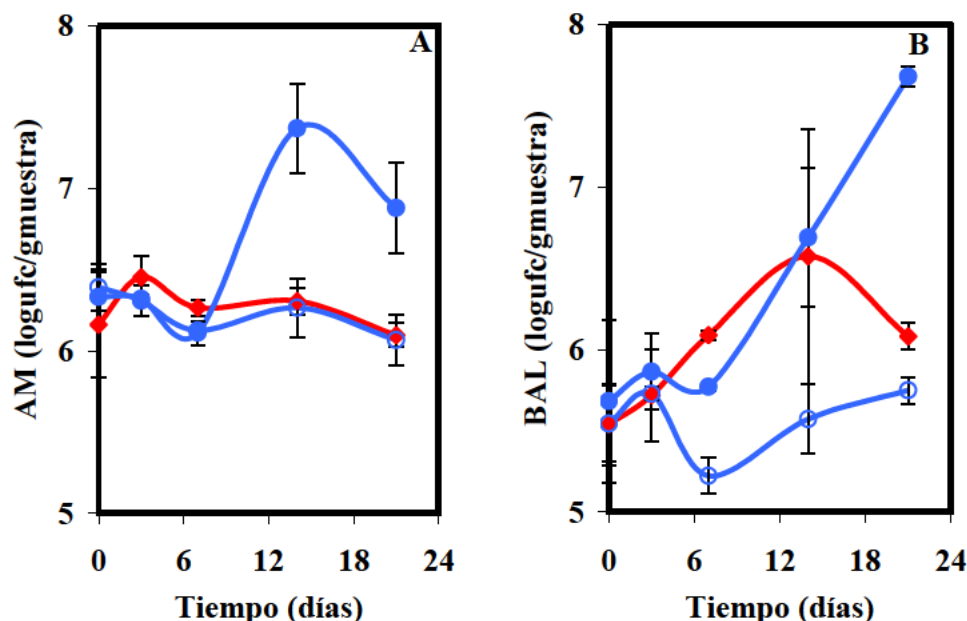
### 6.3.3. Efecto del empleo de distintas mieles sobre la carga microbiana de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración.

En general, la carga microbiana (AM y BAL) (log ufc/g muestra) evaluada en las muestras de ternera picada (control) y en aquellas con un 15% (p/p) de miel (M45), envasadas en 70%O<sub>2</sub>/30CO<sub>2</sub>, aumentó durante el almacenamiento a 4 °C (Figura 6.4). Sin embargo, este aumento no fue tan acusado como el observado en los capítulos anteriores (4 y 5) (Figura 6.4). Así, los recuentos en las muestras del estudio fueron en general menores de 7 log ufc/g muestra, excepto en las muestras con miel líquida (Figura 6.4). Insausti *et al.* (2001) también observaron que los recuentos de aerobios y BAL en carne de vacuno bajo 60%O<sub>2</sub>/30CO<sub>2</sub>/10%N<sub>2</sub> fueron menores de 10<sup>7</sup> ufc/g.

En cuanto al efecto de la miel de mielato, se observó que en general la miel en forma deshidratada no mostró efecto sobre los recuentos de AM y BAL de ternera picada (control) durante los 21 días de almacenamiento (Figura 6.4). Por otro lado, las muestras con miel en forma líquida, mostraron recuentos de AM similares a los de ternera picada durante el tiempo del estudio, excepto a los 14 días, que fueron ligeramente superiores a los del control (Figura 6.4.A). Además, en general, los recuentos de BAL de las muestras con miel en forma líquida fueron similares a los de ternera picada (control) durante el almacenamiento y superiores a los del control, al

final del tiempo de conservación (Figura 6.4.B). Sin embargo, otros autores como Hayes *et al.* (2010) observaron que el empleo de sustancias (luteína, sésamo, ácido elágico y extracto de hoja de oliva) disminuyeron los recuentos de viables totales de carne de vacuno picada envasada en 80% O<sub>2</sub>/20% CO<sub>2</sub>.

El envasado en atmósfera modificada afecta al crecimiento y a la supervivencia de los microorganismos patógenos y del deterioro (Blakistone, 1999b; Farber, 1991; McMillin, 2008). Se ha propuesto el CO<sub>2</sub> para la carne en MAP ya que incrementa la vida útil en las carnes almacenadas a temperaturas bajas mediante la reducción del crecimiento microbiano, especialmente cuando se utiliza a una concentración alta (Church y Parsons, 1995; Sørheim *et al.*, 1999). Sin embargo, su eficacia microbiana disminuye cuando se asocia con otros gases, especialmente el O<sub>2</sub> (Labadie, 1999). Por tanto, el CO<sub>2</sub> es, debido a su actividad antimicrobiana, el componente más importante en las mezclas de gases normalmente aplicadas (Devlieghere *et al.*, 1998). Los niveles por debajo del 15% de CO<sub>2</sub> no inhiben el crecimiento microbiano de manera satisfactoria (McMillin, 2008; McMillin *et al.*, 1999) mientras que niveles altos incrementan las condiciones donde los microorganismos patógenos puedan sobrevivir (Daniels *et al.*, 1985; McMillin, 2008). Se requieren niveles del 20-60% de CO<sub>2</sub> para la efectividad contra microorganismos del deterioro aerobios (McMillin, 2008; Smith *et al.*, 1990), pero pequeños o no efectos se observan con un porcentaje de CO<sub>2</sub> sobre el 50-60% (Gill y Tan, 1980; McMillin, 2008). Generalmente, las bacterias Gram-negativas son más sensibles al CO<sub>2</sub> que las Gram positivas (Church, 1994; McMillin, 2008) ya que la mayoría de las Gram positivas son anaerobias facultativas o estrictas (Gill y Tan, 1980; McMillin, 2008). Pero, de manera individual, las bacterias varían en su sensibilidad al CO<sub>2</sub> (Farber, 1991; McMillin, 2008). En MAP con un nivel alto de O<sub>2</sub>, una variedad de bacterias son capaces de crecer a un alto número final (Jackson *et al.*, 1992; Ordóñez *et al.*, 1991).



**Figura 6.4.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida (●) o deshidratada (○), sobre los recuentos de (A) microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y (B) bacterias ácido lácticas (BAL) de falda de ternera picada (control) (◆) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante 21 días.

#### 6.3.4. Efecto del empleo de distintas mieles sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración.

Los compuestos volátiles observados durante el almacenamiento a 4 °C de ternera picada envasada en 70%O<sub>2</sub>/30%CO<sub>2</sub>, fueron acetona, 2,3-butanodiona, hexanal, 1-pentanol, 2-metil-3-octanona, 1-hexanol, 3-hidroxi-2-butanona, ácido acético, benzaldehído y ácido hexanóico (Figura 6.5, Tabla 6.2).

El compuesto acetona (con un área de pico máximo de 14,35\*10<sup>6</sup> unidades arbitrarias o UA) permaneció estable durante el almacenamiento (Figura 6.5, Tabla 6.2). El compuesto 2,3-butanodiona (40,90\*10<sup>6</sup> UA) aumentó su valor un máximo de 8 veces (x8) durante los 21 días de almacenamiento (Figura 6.5, Tabla 6.2). Además, hexanal (268,38\*10<sup>6</sup> UA, x2,5), 1-pentanol (52,88\*10<sup>6</sup> UA, x2), 2-metil-3-octanona (47,77\*10<sup>6</sup> UA, x4,5), 1-hexanol (268,97\*10<sup>6</sup> UA, x48), ácido acético (12,20\*10<sup>6</sup> UA, x4), benzaldehído (19,22\*10<sup>6</sup> UA, x48) y ácido hexanóico (39,97\*10<sup>6</sup> UA, x5), aumentaron durante el tiempo de conservación (Figura 6.5, Tabla 6.2). Sin embargo, 3-hidroxi-2-butanona (5,99\*10<sup>6</sup> UA) disminuyó (x3,5) durante el tiempo del estudio (Figura 6.5, Tabla 6.2). Además de los compuestos mencionados, se observaron otros como los

aldehídos heptanal, octanal, nonanal y nonenal que mostraron áreas de pico menores que los anteriores pero aumentaron durante el estudio de 9 a 12 veces (Figura 6.5, Tabla 6.2). Por tanto, los valores de los compuestos volátiles de ternera picada envasada en atmósfera modificada almacenada en refrigeración variaron durante el almacenamiento (Figura 6.5, Tabla 6.2). Según Vinauskiene *et al.* (2002) cambios en los compuestos volátiles durante el almacenamiento en refrigeración pueden mostrar un deterioro en la carne de tipo químico, microbiano o enzimático. Así, los alcoholes de cadena recta proceden de la oxidación lipídica (Forss, 1972). Además, los aldehídos de cadena recta pentanal, hexanal, heptanal, 2-heptenal, octanal, nonanal, 2-nonenal y 2,4-decadienal han sido utilizados para monitorizar la oxidación lipídica en jamón curado (Cava *et al.*, 1999) y en productos cárnicos (Shahidi, 1998). Los aldehídos tienen un gran impacto sobre el aroma de la carne debido a sus valores umbrales del olor bajos (Muriel *et al.*, 2004). Ellos exhiben notas de aromas característicos como olores a mantequilla, dulce, floral, tostado y a verde (Belitz y Grosch, 1997; Stahnke, 1998). Además, el hexanal es un producto procedente de la oxidación lipídica secundaria y el aldehído predominante, que juega un papel importante en el *flavor* oxidado de todas las carnes, en particular, de cerdo (Frankel *et al.*, 1984; Shahidi y Pegg, 1994b). Por tanto, en ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración, hubo un aumento de los valores de los compuestos procedentes de la oxidación lipídica tales como los aldehídos hexanal, heptanal, octanal y nonenal y los alcoholes de cadena recta 1-pentanol y 1-hexanol (Figura 6.5, Tabla 6.2).

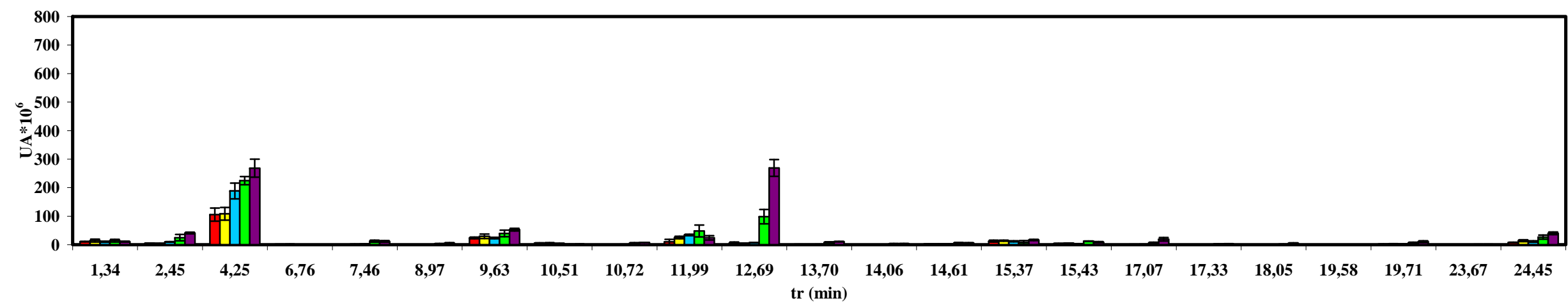
Con la adición de un 15% (p/p) de la miel M45 en forma líquida, se observó que los compuestos acetona ( $72,97 \times 10^6$  UA, x6), 2,3-butanodiona ( $246,07 \times 10^6$  UA, x40), 1-pentanol ( $34,41 \times 10^6$  UA, x3), 3-hidroxi-2-butanona ( $226,95 \times 10^6$  UA, x20), 1-hexanol ( $158,55 \times 10^6$  UA, x60), ácido acético ( $135,51 \times 10^6$  UA, x20), benzaldehído ( $98,03 \times 10^6$  UA, x50) y ácido hexanoico ( $89,96 \times 10^6$  UA, x12), aumentaron durante el tiempo en refrigeración (Figura 6.6.A, Tabla 6.2). Además, 2-metil-3-octanona tuvo un máximo a los 3 días ( $38,79 \times 10^6$  UA) y disminuyó durante el resto de la conservación (Figura 6.6.A, Tabla 6.2). Por último, la señal de hexanal aumentó durante la primera semana ( $509,37 \times 10^6$  UA, x2,7) y disminuyó durante la última (x4,80) y los aldehídos octanal, nonanal y nonenal no obtuvieron valores altos pero aumentaron (x12-16) durante el estudio (Figura 6.6.A, Tabla 6.2). Las cetonas de cadena recta pueden derivar de la oxidación lipídica (Belitz y Grosch, 1997). Sin embargo, los compuestos ácido acético

(Kandler, 1983), 2,3-butanodiona (Cogan, 1995) y benzaldehído (Smit *et al.*, 2005) tienen su origen principalmente microbiano (Cogan, 1995; Kandler, 1983; Smit *et al.*, 2005). Además, 3-hidroxi-2-butanona puede originarse de la degradación microbiana (Ardö, 2006; Kandler, 1983; Leroy *et al.*, 2009) aunque otros lo consideran como un compuesto procedente de la oxidación (Stetzer *et al.*, 2008).

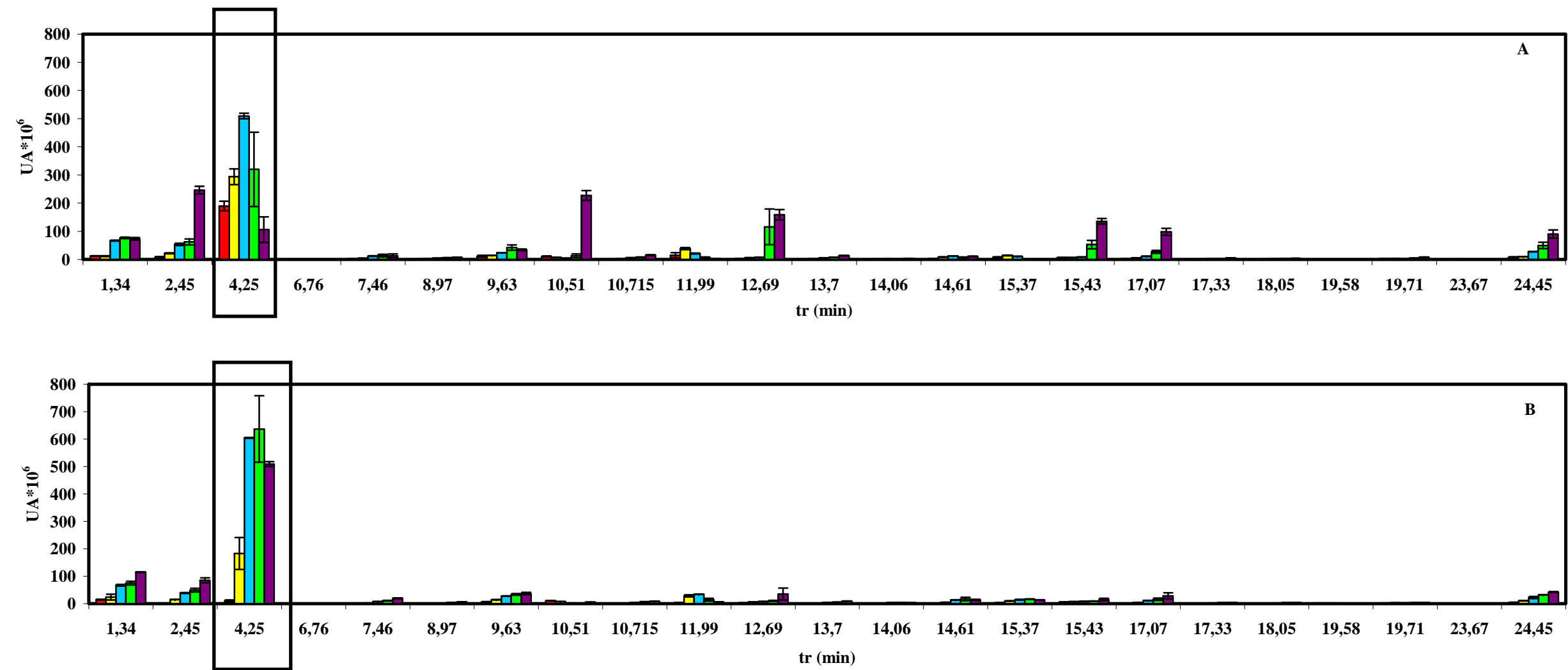
Con el empleo de la misma miel en forma deshidratada, los compuestos acetona ( $115,00 \cdot 10^6$  UA, x8), 2,3-butanodiona ( $85,31 \cdot 10^6$  UA, x60), 1-pentanol ( $36,76 \cdot 10^6$  UA, x6), 1-hexanol ( $9,97 \cdot 10^6$  UA, x3,6), ácido acético ( $9,11 \cdot 10^6$  UA, 1,6), benzaldehído ( $16,21 \cdot 10^6$  UA, x28) y ácido hexanóico ( $41,92 \cdot 10^6$  UA, x12), aumentaron durante el almacenamiento en refrigeración (Figura 6.6.B, Tabla 6.2). Sin embargo, 3-hidroxi-2-butanona ( $10,41 \cdot 10^6$  UA, x8) disminuyó durante el estudio (Figura 6.6.B, Tabla 6.2). La señal de 2-metil-3-octanona aumentó hasta los 7 días ( $34,07 \cdot 10^6$  UA, x11,8) y disminuyó el resto del almacenamiento (x6,2) (Figura 6.6.B, Tabla 6.2). Por último, el compuesto hexanal aumentó durante los 7 primeros días ( $604,67 \cdot 10^6$  UA, x66) y disminuyó durante el resto del almacenamiento (x1,2), mientras que octanal (x35), nonanal (x35) y nonenal (x74) no obtuvieron valores altos pero aumentaron durante el estudio (Figura 6.6.B, Tabla 6.2).

Por tanto, con la adición de la miel en forma líquida, aumentó la señal de compuestos procedentes de la oxidación lipídica como hexanal, octanal, nonanal y nonenal, aunque disminuyó 1-hexanol y aumentó durante la tercera semana el valor de 3-hidroxi-2-butanona y de compuestos relacionados con el metabolismo microbiano como 2,3-butanodiona y ácido acético (Figura 6.6.A, Tabla 6.2). Además, el empleo de la miel en forma deshidratada, aumentó sobre todo la señal de compuestos procedentes de la oxidación lipídica como hexanal, octanal, nonanal, nonenal, aunque disminuyó 1-hexanol de ternera picada envasada en atmósfera modificada (Figura 6.6.B, Tabla 6.2). Por tanto, la principal vía degradativa fue la oxidativa.

El envasado con contenidos altos de O<sub>2</sub> puede beneficiar la estabilidad del color, pero reduce la del *flavor* y del aroma, ya que los aromas y el *flavor* extraños pueden desarrollarse antes de que el color se haya deteriorado (Jayasingh *et al.*, 2002; Mancini y Hunt, 2005). Las concentraciones altas de O<sub>2</sub> impactan de forma negativa ya que lideran el desarrollo de un *flavor* indeseable (Estévez y Cava, 2004; Rhee y Ziprin, 1987).



**Figura 6.5.** Compuestos volátiles de falda de ternera picada envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. tr (min): 1,34 (acetona), 2,45 (2,3-butanodiona), 4,25 (hexanal), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona), 12,69 (hexanol), 15,43 (ácido acético), 17,07 (benzaldehído), 24,45 (ácido hexanóico).



**Figura 6.6.** Compuestos volátiles de falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) (A) en forma líquida y (B) en forma deshidratada, envasadas en atmósfera modificada y almacenadas a 4 °C durante (■) 0, (■) 3, (■) 7, (■) 14 y (■) 21 días. tr (min): 1,34 (acetona), 2,45 (2,3-butanodiona), 4,25 (hexanal), 10,51 (3-hidroxi-2-butanona), 12,69 (hexanol), 15,43 (ácido acético), 17,07 (benzaldehído), 24,45 (ácido hexanóico).

**Tabla 6.2.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada (Control) envasada en atmósfera modificada y almacenada a 4 °C durante 21 días.

	Muestra	Control	M45(L)	M45(D)	Control	M45(L)	M45(D)	Control	M45(L)	M45(D)	Control	M45(L)	M45(D)	Control	M45(L)	M45(D)
	Tiempo (días)	0	0	0	3	3	3	7	7	7	14	14	14	21	21	21
Compuesto	tr (min)															
Acetona	1,34	10,74±0,62 <sup>aA</sup>	12,13±0,65 <sup>aAB</sup>	14,62±0,99 <sup>aB</sup>	14,35±4,67 <sup>aA</sup>	11,71±1,67 <sup>aA</sup>	23,86±10,78 <sup>aA</sup>	10,42±1,80 <sup>aA</sup>	66,84±1,20 <sup>bB</sup>	67,39±3,13 <sup>bB</sup>	14,00±4,93 <sup>aA</sup>	76,55±2,44 <sup>cB</sup>	74,54±6,60 <sup>bB</sup>	10,48±1,42 <sup>aA</sup>	72,97±4,80 <sup>bcB</sup>	115,00±0,68 <sup>cC</sup>
2,3-butano-diona	2,45	4,98±0,99 <sup>aB</sup>	5,84±4,07 <sup>aAB</sup>	1,44±0,62 <sup>aA</sup>	4,52±0,44 <sup>aA</sup>	21,76±1,73 <sup>bC</sup>	15,00±0,13 <sup>bB</sup>	9,82±0,98 <sup>bA</sup>	53,45±3,77 <sup>cC</sup>	38,86±1,44 <sup>cB</sup>	24,62±11,34 <sup>abcA</sup>	62,19±10,63 <sup>cB</sup>	49,38±6,88 <sup>cAB</sup>	40,90±2,91 <sup>cA</sup>	246,07±13,32 <sup>dC</sup>	85,31±8,85 <sup>dB</sup>
Hexanal	4,25	105,40±23,20 <sup>aB</sup>	189,27±16,94 <sup>aC</sup>	9,10±4,54 <sup>aA</sup>	108,31±22,06 <sup>aA</sup>	293,62±28,18 <sup>bB</sup>	182,90±58,02 <sup>bAB</sup>	188,52±27,65 <sup>bA</sup>	509,37±9,97 <sup>cB</sup>	604,67±1,42 <sup>dC</sup>	224,60±14,11 <sup>bcA</sup>	319,65±131,74 <sup>abcAB</sup>	636,79±121,14 <sup>cdB</sup>	268,38±31,88 <sup>cB</sup>	105,91±45,25 <sup>aA</sup>	508,71±8,99 <sup>cC</sup>
1-penten-3-ol	6,76	1,61±0,08 <sup>aB</sup>	0,98±0,04 <sup>A</sup>	0,72±0,23 <sup>A</sup>	1,65±0,45 <sup>a</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Heptanal	7,46	-----	2,70±0,29 <sup>abB</sup>	0,26±0,11 <sup>aA</sup>	1,75±0,75 <sup>aA</sup>	4,19±0,49 <sup>abB</sup>	2,46±0,02 <sup>bA</sup>	2,43±0,75 <sup>aA</sup>	11,91±0,85 <sup>cC</sup>	7,56±0,19 <sup>cB</sup>	12,25±3,47 <sup>bA</sup>	13,48±4,99 <sup>bcA</sup>	11,01±1,01 <sup>dA</sup>	11,73±2,87 <sup>bA</sup>	13,21±6,51 <sup>bcAB</sup>	19,52±1,47 <sup>eB</sup>
2-pentil-furano	8,97	-----	1,14±0,19 <sup>a</sup>	-----	-----	2,31±0,26 <sup>b</sup>	-----	-----	4,34±0,05 <sup>c</sup>	-----	3,19±0,80 <sup>aA</sup>	6,09±0,20 <sup>dB</sup>	4,22±0,45 <sup>aA</sup>	4,68±2,14 <sup>aA</sup>	7,03±0,19 <sup>eA</sup>	6,34±0,40 <sup>bA</sup>
1-pentanol	9,63	23,76±2,69 <sup>aB</sup>	11,11±3,36 <sup>aA</sup>	6,00±1,59 <sup>aA</sup>	29,62±7,76 <sup>aA</sup>	14,31±0,32 <sup>abA</sup>	14,54±0,64 <sup>bA</sup>	23,44±2,37 <sup>aAB</sup>	23,98±0,28 <sup>cA</sup>	27,56±0,46 <sup>cB</sup>	39,18±11,50 <sup>abA</sup>	42,24±9,38 <sup>cA</sup>	33,43±3,13 <sup>cdA</sup>	52,88±4,80 <sup>bB</sup>	34,41±2,89 <sup>dA</sup>	36,76±4,03 <sup>cA</sup>
3-hidroxi-2-butanona	10,51	5,99±0,25 <sup>cA</sup>	10,45±1,74 <sup>cAB</sup>	10,41±0,84 <sup>cB</sup>	5,82±1,71 <sup>bcA</sup>	6,67±0,24 <sup>acA</sup>	7,54±0,24 <sup>bA</sup>	4,23±0,82 <sup>bB</sup>	3,90±0,94 <sup>abAB</sup>	1,94±0,39 <sup>aA</sup>	1,79±0,26 <sup>aA</sup>	13,10±6,73 <sup>bcdA</sup>	1,31±0,54 <sup>aA</sup>	1,71±0,88 <sup>aA</sup>	226,95±17,38 <sup>dC</sup>	5,46±0,65 <sup>bB</sup>
Octanal	10,71	0,60±0,11 <sup>aB</sup>	0,95±0,46 <sup>aAB</sup>	0,24±0,11 <sup>aA</sup>	0,64±0,15 <sup>aA</sup>	2,13±0,04 <sup>aB</sup>	0,72±0,01 <sup>bA</sup>	0,90±0,22 <sup>aA</sup>	5,99±0,27 <sup>bc</sup>	3,44±0,13 <sup>cB</sup>	5,31±1,58 <sup>bA</sup>	7,46±1,31 <sup>bA</sup>	5,72±1,60 <sup>cdA</sup>	7,56±0,41 <sup>bA</sup>	15,24±1,17 <sup>cB</sup>	8,48±0,40 <sup>dA</sup>
2-metil-3-octanona	11,99	10,34±8,56 <sup>aA</sup>	14,28±9,51 <sup>abcA</sup>	2,87±0,89 <sup>aA</sup>	25,22±4,54 <sup>abA</sup>	38,79±3,57 <sup>cB</sup>	28,38±3,92 <sup>bcAB</sup>	34,09±2,17 <sup>cB</sup>	21,21±1,61 <sup>bA</sup>	34,07±0,01 <sup>cB</sup>	47,77±20,84 <sup>bcB</sup>	6,49±1,97 <sup>aA</sup>	14,02±5,24 <sup>abAB</sup>	24,06±7,21 <sup>acB</sup>	2,55±0,07 <sup>aA</sup>	5,48±1,44 <sup>aA</sup>
1-hexanol	12,69	5,70±3,41 <sup>abA</sup>	2,64±0,89 <sup>aA</sup>	2,75±0,41 <sup>aA</sup>	4,66±0,98 <sup>aA</sup>	5,90±0,91 <sup>abA</sup>	5,73±0,42 <sup>bA</sup>	7,23±0,88 <sup>bA</sup>	6,96±0,09 <sup>bA</sup>	7,48±0,53 <sup>bA</sup>	98,23±25,13 <sup>cB</sup>	115,71±63,13 <sup>abcAB</sup>	9,97±1,63 <sup>bA</sup>	268,97±29,55 <sup>dC</sup>	158,55±17,89 <sup>cB</sup>	35,09±21,85 <sup>abA</sup>
Nonanal	13,70	1,17±0,25 <sup>aB</sup>	0,96±0,44 <sup>aAB</sup>	0,27±0,13 <sup>aA</sup>	1,29±0,31 <sup>aA</sup>	2,66±0,54 <sup>aB</sup>	1,45±0,37 <sup>aAB</sup>	1,40±0,15 <sup>aA</sup>	5,92±0,04 <sup>bc</sup>	3,98±0,36 <sup>bB</sup>	7,73±2,45 <sup>bAB</sup>	7,84±0,32 <sup>cB</sup>	5,11±0,24 <sup>bA</sup>	10,90±0,92 <sup>bA</sup>	13,48±0,70 <sup>dB</sup>	8,89±0,63 <sup>cA</sup>
3,5-octadien-2-ol	14,06	0,41±0,20 <sup>abA</sup>	0,50±0,42 <sup>abA</sup>	-----	0,52±0,04 <sup>aA</sup>	1,49±0,03 <sup>aB</sup>	1,11±0,17 <sup>aB</sup>	0,94±0,00 <sup>bA</sup>	1,83±0,14 <sup>abB</sup>	3,14±0,27 <sup>bc</sup>	3,08±1,36 <sup>bcA</sup>	1,78±0,00 <sup>bA</sup>	3,51±1,16 <sup>bA</sup>	3,85±0,81 <sup>cA</sup>	3,35±0,14 <sup>cA</sup>	2,95±0,20 <sup>bA</sup>
2-octenal	14,61	2,38±0,56 <sup>aB</sup>	2,33±1,61 <sup>aAB</sup>	0,39±0,04 <sup>aA</sup>	2,23±0,31 <sup>aA</sup>	8,05±1,10 <sup>abC</sup>	4,48±1,10 <sup>bB</sup>	2,25±0,29 <sup>aA</sup>	12,02±0,24 <sup>cB</sup>	13,58±0,39 <sup>cC</sup>	5,64±1,94 <sup>abA</sup>	7,06±1,68 <sup>abcA</sup>	16,84±6,15 <sup>abcA</sup>	6,07±0,96 <sup>bA</sup>	10,91±0,57 <sup>bcB</sup>	14,05±1,80 <sup>cB</sup>
1-octen-3-ol	15,37	12,41±3,07 <sup>abB</sup>	6,77±2,57 <sup>aAB</sup>	2,74±0,86 <sup>aA</sup>	13,97±1,89 <sup>aAB</sup>	14,40±1,19 <sup>aB</sup>	9,71±0,71 <sup>bA</sup>	11,60±1,73 <sup>abAB</sup>	10,84±0,09 <sup>aA</sup>	14,52±1,18 <sup>cB</sup>	8,22±5,88 <sup>abA</sup>	-----	16,39±0,89 <sup>cA</sup>	16,31±2,04 <sup>bA</sup>	-----	13,35±0,99 <sup>bcA</sup>
Ácido acético	15,43	4,08±0,09 <sup>aA</sup>	6,40±0,55 <sup>aB</sup>	5,70±0,21 <sup>aB</sup>	4,72±1,26 <sup>abAB</sup>	6,46±0,17 <sup>aA</sup>	7,11±0,08 <sup>bB</sup>	3,06±0,79 <sup>aA</sup>	8,41±0,13 <sup>bB</sup>	7,50±1,15 <sup>abcB</sup>	12,20±0,37 <sup>cB</sup>	52,97±15,03 <sup>bAB</sup>	9,11±0,54 <sup>cA</sup>	8,83±2,26 <sup>bcA</sup>	135,51±9,95 <sup>cB</sup>	14,95±4,12 <sup>abcA</sup>
Benzal-dehído	17,07	0,40±0,10 <sup>aA</sup>	1,82±1,22 <sup>aA</sup>	0,57±0,24 <sup>aA</sup>	0,84±0,41 <sup>abA</sup>	5,94±0,18 <sup>aC</sup>	4,30±0,27 <sup>bB</sup>	1,30±0,07 <sup>bcA</sup>	11,15±0,21 <sup>bB</sup>	11,44±0,36 <sup>cB</sup>	6,46±2,23 <sup>cA</sup>	26,83±5,22 <sup>bB</sup>	16,21±4,07 <sup>bcB</sup>	19,22±6,08 <sup>dA</sup>	98,03±12,16 <sup>cB</sup>	28,34±10,86 <sup>abcA</sup>
Nonenal	17,33	0,36±0,09 <sup>aA</sup>	0,40±0,21 <sup>aA</sup>	-----	-----	1,21±0,23 <sup>aA</sup>	0,57±0,07 <sup>aA</sup>	0,70±0,37 <sup>aA</sup>	2,39±0,01 <sup>bB</sup>	1,89±0,17 <sup>bB</sup>	2,34±0,36 <sup>bA</sup>	2,83±0,05 <sup>cA</sup>	2,72±0,73 <sup>abcA</sup>	3,06±0,30 <sup>bA</sup>	5,15±0,28 <sup>dC</sup>	4,00±0,23 <sup>cB</sup>
1-octanol	18,05	0,58±0,15 <sup>aA</sup>	0,54±0,19 <sup>aA</sup>	0,30±0,10 <sup>aA</sup>	0,78±0,18 <sup>aAB</sup>	1,20±0,04 <sup>bB</sup>	0,73±0,14 <sup>aA</sup>	0,64±0,15 <sup>aA</sup>	1,86±0,10 <sup>cB</sup>	2,00±0,18 <sup>bB</sup>	1,59±0,77 <sup>aA</sup>	2,88±0,83 <sup>abcA</sup>	2,92±0,79 <sup>bA</sup>	5,25±1,17 <sup>bA</sup>	3,83±0,75 <sup>cA</sup>	2,93±0,71 <sup>bA</sup>
Butiro-lactona	19,58	0,48±0,03 <sup>aA</sup>	1,05±0,02 <sup>bB</sup>	2,31±0,04 <sup>bc</sup>	0,54±0,14 <sup>aA</sup>	0,71±0,04 <sup>aA</sup>	2,21±0,15 <sup>abB</sup>	0,49±0,09 <sup>aA</sup>	0,78±0,09 <sup>aA</sup>	1,75±0,22 <sup>abB</sup>	0,49±0,10 <sup>aA</sup>	0,68±0,07 <sup>aA</sup>	1,67±0,19 <sup>aB</sup>	0,53±0,12 <sup>aA</sup>	0,61±0,07 <sup>aA</sup>	1,76±0,13 <sup>aB</sup>
Ácido butanóico	19,71	2,04±0,33 <sup>aA</sup>	3,25±0,24 <sup>abB</sup>	2,38±0,23 <sup>aAB</sup>	2,91±0,76 <sup>aAB</sup>	3,41±0,01 <sup>bB</sup>	2,69±0,08 <sup>aA</sup>	2,36±0,69 <sup>aA</sup>	2,49±0,20 <sup>aA</sup>	2,57±0,34 <sup>aA</sup>	6,14±2,22 <sup>abA</sup>	4,41±0,87 <sup>abcA</sup>	3,12±0,26 <sup>aA</sup>	10,49±3,45 <sup>bAB</sup>	7,31±1,16 <sup>cB</sup>	2,84±0,71 <sup>aA</sup>
2,4-deca-dienal	23,67	-----	-----	-----	0,26±0,01 <sup>aA</sup>	1,25±0,32 <sup>aB</sup>	0,81±0,19 <sup>aA</sup>	0,36±0,05 <sup>bA</sup>	0,86±0,02 <sup>aB</sup>	1,55±0,01 <sup>bc</sup>	1,02±0,24 <sup>cA</sup>	0,95±0,05 <sup>aA</sup>	1,48±0,38 <sup>abA</sup>	0,95±0,20 <sup>cA</sup>	0,92±0,00 <sup>aA</sup>	1,07±0,16 <sup>abA</sup>
Ácido Hexanóico	24,45	7,69±1,17 <sup>aB</sup>	7,34±1,83 <sup>aAB</sup>	3,43±1,72 <sup>aA</sup>	14,10±3,03 <sup>bA</sup>	10,08±0,09 <sup>aA</sup>	10,43±0,46 <sup>bA</sup>	11,26±2,44 <sup>abA</sup>	27,83±0,87 <sup>bB</sup>	22,71±3,71 <sup>cB</sup>	26,79±7,06 <sup>bcA</sup>	49,79±11,39 <sup>bcA</sup>	32,37±0,61 <sup>cA</sup>	39,97±4,61 <sup>cA</sup>	89,96±14,50 <sup>cB</sup>	41,92±1,75 <sup>dA</sup>

\*Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas) los valores en filas seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p&lt;0,05).



## **Capítulo 7: Empleo de miel artesanal y distintos tipos de envasado sobre la conservación de falda de ternera picada cruda almacenada en refrigeración**



### 7.1. INTRODUCCIÓN.

La vida útil de los productos perecederos, como es la carne, conservados en atmósfera normal, está limitada principalmente por dos factores: el efecto del oxígeno atmosférico y el crecimiento de microorganismos aerobios productores de alteraciones. Estos factores, de forma individual o asociados con otros, producen cambios de olor, sabor, color y textura, conduciendo a un deterioro general de la calidad (Zhou *et al.*, 2010).

La vida útil y la calidad de la carne de vacuno fresca están fuertemente influidas por la calidad inicial de la carne, el envasado y las condiciones de almacenamiento (Zhao *et al.*, 1994). La industria alimentaria ha desarrollado diferentes tecnologías de envasado con el fin de ampliar la vida útil de los productos perecederos tales como la carne y los productos cárnicos (García *et al.*, 2004). El envasado protege los productos contra los efectos del deterioro, que incluyen la decoloración, el desarrollo del *flavor* y los aromas extraños, la pérdida de nutrientes, los cambios en la textura, la patogenicidad y otros factores medibles (Zhou *et al.*, 2010) e influye en la prolongación de la vida útil de la carne cruda en frío (Renner y Labadie, 1993). Las opciones de envasado para la carne picada fresca son el envasado permeable al aire, el envasado con bajo oxígeno, el

envasado en atmósfera modificada (MAP) con bajo oxígeno y MAP con alto oxígeno (Zhou *et al.*, 2010). Se han llevado a cabo estudios con el fin de observar la efectividad del envasado a vacío, la diferente composición de gas y el material de envasado sobre la conservación de la carne fresca (Buys *et al.*, 2000; García de Fernando *et al.*, 1995; Gill, 1996; Houben *et al.*, 2000; Sørheim *et al.*, 1999). Los envasados que contienen hasta un 80% de O<sub>2</sub> y un 20% de CO<sub>2</sub> reducen el deterioro del color de los cortes de carne de la venta al por menor e incrementan ligeramente la vida útil, comparado al almacenamiento aeróbico (Borch *et al.*, 1996).

Por otro lado, la miel se ha utilizado tradicionalmente como agente endulzante (McKibben y Engeseth, 2002). Además, ha sido mostrada por tener capacidad de conservación en la minimización de reacciones de deterioro oxidativo en alimentos (Antony *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2000) y la protección contra el crecimiento microbiano (Willix *et al.*, 1992). La miel contiene flavonoides, ácido ascórbico, tocoferoles, catalasa, compuestos fenólicos y productos de la reacción de Maillard (MRP) los cuales trabajan juntos para proporcionar un efecto antioxidante sinérgico (Johnston *et al.*, 2005).

Por todo ello, en este capítulo se ha comparado el posible efecto beneficioso (antioxidante y antimicrobiano) del empleo de una miel, junto con el envasado a vacío o en atmósfera modificada, sobre la vida útil de falda de ternera picada cruda envasada en aire o aerobiosis y almacenada a 4 °C.

## **7.2. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **7.2.1. Muestras.**

Falda de ternera picada (músculo *Cutaneous trunci*) se obtuvo en un supermercado. El porcentaje medio de grasa fue de un 17,96±1,25% (capítulo 4, apartado 4.3.1).

La miel utilizada fue miel artesanal, M45. La miel de mielato, M45, en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], se añadió a falda de ternera picada en un 15% (p/p). Las muestras se envasaron en aire, a vacío o en atmósfera modificada (70% O<sub>2</sub> / 30% CO<sub>2</sub>), en bolsas de plástico de 20/80 µm (Rilthene L) y se almacenaron a 4 °C durante 3 días para aquellas con miel envasadas en aire y 7 días para las muestras de ternera

picada envasadas en aerobiosis y aquellas con miel envasadas a vacío o en atmósfera modificada. Las muestras se analizaron a tiempos 0 y 3 días para el caso de aquellas con miel envasadas en aire y además a 7 días para las muestras de ternera picada envasadas en aire y aquellas con miel envasadas a vacío o en atmósfera modificada (Figura 7.1).

### **7.2.2. Preparación de miel en polvo o deshidratada.**

Se preparó en forma deshidratada la miel M45 siguiendo la metodología del apartado 4.2.2 del capítulo 4.

### **7.2.3. Análisis físico-químicos de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración.**

#### **7.2.3.1. Medida de los valores de pH de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de pH de las distintas muestras (Figura 7.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.4.1 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **7.2.3.2. Medida del color de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores  $a^*$  (tendencia al rojo), Chroma o  $C^*$  (saturación) y Hue o  $H^*$  (tono) de las distintas muestras (Figura 7.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.4.3 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **7.2.4. Medida de la oxidación lipídica de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de las distintas muestras (Figura 7.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.5 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **7.2.5. Análisis microbiológico de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración.**

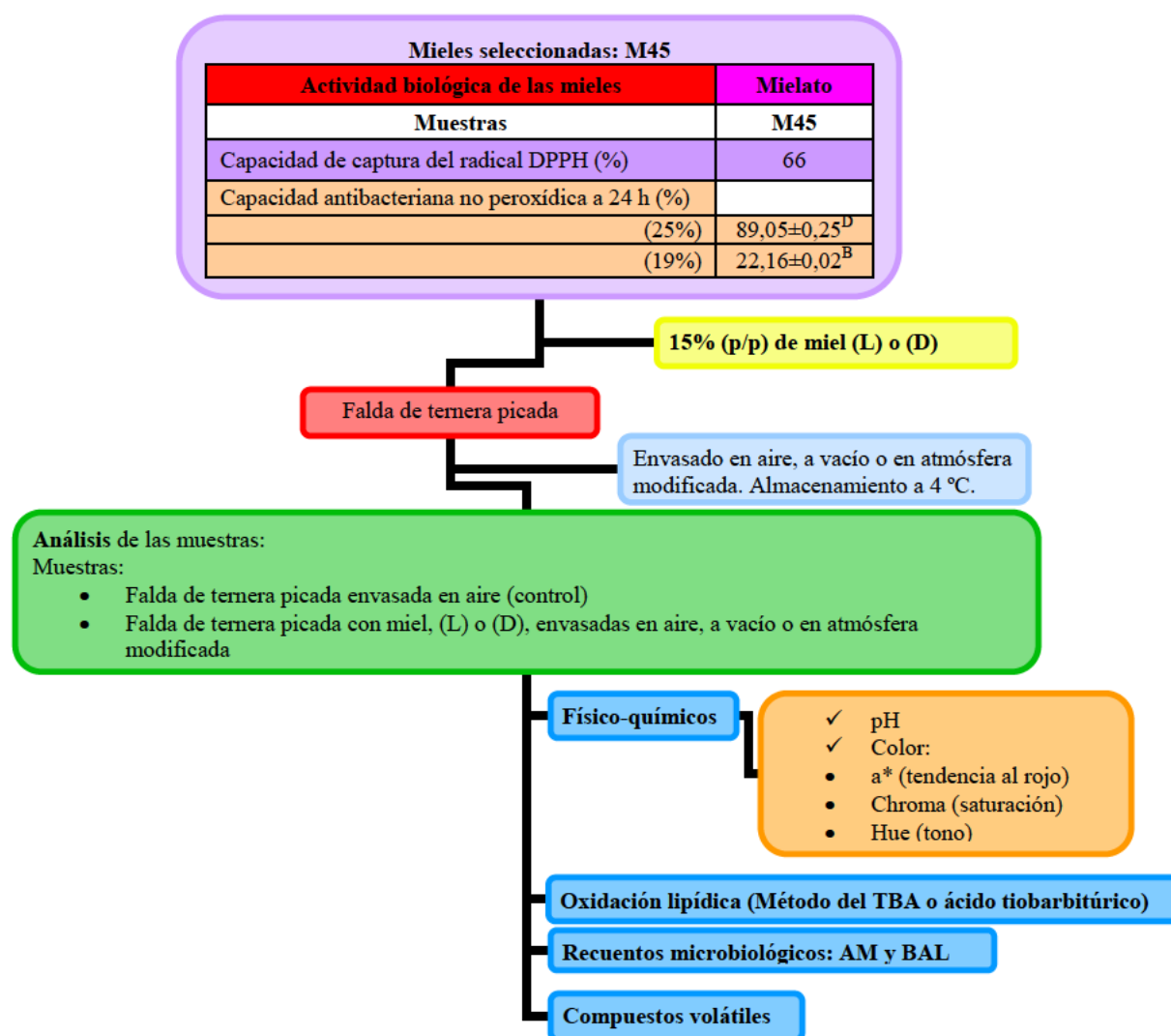
Se realizaron recuentos en placa de microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y bacterias ácido lácticas (BAL) de las distintas muestras (Figura 7.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.6 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **7.2.6. Análisis de compuestos volátiles de las muestras envasadas y almacenadas en refrigeración.**

Se analizaron los compuestos volátiles en el espacio de cabeza de falda de ternera picada (control) envasada en aire y falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel M45, en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], envasadas a vacío o en atmósfera modificada y almacenadas a 4 °C, siguiendo la metodología del apartado 4.2.7 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **7.2.7. Análisis estadístico.**

Para cada parámetro las medias fueron comparadas mediante la prueba t-Student con el programa Excel (versión 2002). Las diferencias fueron consideradas significativas para  $p < 0,05$ .



**Figura 7.1.** Esquema de la metodología utilizada en este capítulo.

### 7.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

**7.3.1. Efecto del empleo de miel con distintos tipos de envasado sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada almacenada en refrigeración.**

**7.3.1.1. Efecto del empleo de miel con distintos tipos de envasado sobre los valores de pH de falda de ternera picada almacenada en refrigeración.**

En general, los valores de pH de ternera picada (control) envasada en aire, aumentaron ligeramente durante los 7 días de almacenamiento a 4 °C (Tabla 7.1). Sin embargo, los valores de pH de ternera picada con un 15% (p/p) de miel (M45) y envasadas (aire, vacío o atmósfera modificada), disminuyeron durante el estudio (Tabla

7.1). En otros estudios de conservación, autores como Suman *et al.* (2010) observaron que el tiempo de almacenamiento no tuvo efecto sobre el pH de carne de vacuno picada.

Además, las muestras con miel, mostraron valores menores que los de ternera picada (control) a 0 días, por el propio valor de pH de esta miel de mielato en forma líquida (4,53) y durante el tiempo del estudio (Tabla 7.1). Suman *et al.* (2010) observaron que la adición de sustancias como quitosano aumentó el pH de carne de vacuno picada.

Entre las distintas muestras con miel, se observó que aquellas envasadas a vacío obtuvieron los valores mayores de pH a los 3 días y los menores a tiempo 7 días (Tabla 7.1). Sin embargo, en otros estudios de conservación, se ha observado que el envasado (cloruro de polivinilo, vacío y atmósfera modificada) no tuvo efecto sobre los valores de pH de carne de vacuno picada (Suman *et al.*, 2010).

**Tabla 7.1.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP) sobre los valores de pH de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante 7 días.

Muestra	Tiempo (días)		
	0	3	7
CA	5,81±0,03 <sup>bE</sup>	5,70±0,03 <sup>aF</sup>	5,87±0,03 <sup>cD</sup>
M45(L)A	5,58±0,04 <sup>aA</sup>	5,56±0,03 <sup>aC</sup>	
M45(D)A	5,68±0,05 <sup>bCD</sup>	5,52±0,03 <sup>aB</sup>	
M45(L)V	5,67±0,06 <sup>bC</sup>	5,64±0,04 <sup>bE</sup>	5,15±0,13 <sup>aA</sup>
M45(D)V	5,67±0,05 <sup>bC</sup>	5,68±0,03 <sup>bF</sup>	5,31±0,05 <sup>aB</sup>
M45(L)MAP	5,71±0,03 <sup>cD</sup>	5,50±0,02 <sup>aA</sup>	5,65±0,03 <sup>bC</sup>
M45(D)MAP	5,63±0,06 <sup>bB</sup>	5,59±0,04 <sup>aD</sup>	5,65±0,03 <sup>bC</sup>

\*Prueba t-Student. Los valores en filas (letras minúsculas) y en columnas (letras mayúsculas) seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05).

### 7.3.1.2. Efecto del empleo de miel con distintos tipos de envasado sobre los valores de color de falda de ternera picada almacenada en refrigeración.

En general, la tendencia al rojo (valor a\*) y la saturación del color (C\*) evaluados en ternera picada envasada en aire (control) y ternera picada con un 15% (p/p) de miel (M45) envasada (aire, vacío o atmósfera modificada), disminuyeron durante el almacenamiento a 4 °C (Tabla 7.2). Sin embargo, la tendencia al pardeamiento (valor



H\*) de cada una de las muestras aumentó durante el tiempo del estudio (Tabla 7.2). Como excepción, se observó que en aquellas envasadas a vacío con la miel de mielato en forma deshidratada, hubo un ligero aumento de la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ), una ligera disminución en el pardeamiento (valor H\*) y no hubo variaciones en la saturación del color (valor  $C^*$ ) durante los 7 días de almacenamiento (Tabla 7.2)

En cuanto al efecto del empleo de la miel y el tipo de envasado (aire, vacío o atmósfera modificada) sobre los valores  $a^*$ ,  $C^*$  y H\* de ternera picada envasada en aire (control), se esperó que cambiara a los 0 días por el color marrón oscuro de esta miel de mielato en forma líquida. Así, se observó que la adición de miel y el envasado, disminuyeron la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) y la saturación (valor  $C^*$ ) respecto al control, mientras que aumentaron la tendencia al pardeamiento (valor H\*) a los 0 días y durante el almacenamiento (Tabla 7.2). Como excepción, se observó que el empleo de miel líquida y el envasado a vacío aumentaron ligeramente la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) y la saturación (valor  $C^*$ ) y disminuyeron la tendencia al pardeamiento (valor H\*) respecto al control a los 7 días, mientras que la forma deshidratada no mostró efecto (Tabla 7.2).

Entre los distintos tratamientos con miel, las muestras con mieles líquidas envasadas en aire y a vacío mostraron una tendencia al color rojo mayor que aquellas envasadas en atmósfera modificada (Tabla 7.2). Sin embargo, Martínez *et al.* (2006) publicaron en su estudio de conservación de salchichas bajo diferentes mezclas de gases que las envasadas en aire mostraron los valores  $a^*$  menores durante los primeros días de almacenamiento. Además, las salchichas envasadas en una atmósfera muy rica de  $O_2$  mostraron el color rojo más intenso, pero sólo durante unos pocos días (Martínez *et al.*, 2006). Sin embargo, Esmer *et al.* (2011) mostraron que los valores  $a^*$  menores obtenidos en carne picada bajo diferentes envasados (distintas mezclas de gases y envasadas en aire) fueron para aquellos envasados en atmósfera modificada con 30%  $O_2$ /70%  $CO_2$  y 50%  $O_2$ /50%  $CO_2$  (Esmer *et al.*, 2011).

**Tabla 7.2.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP), sobre los valores  $a^*$  (rojo), Chroma o  $C^*$  (saturación) y Hue o  $H^*$  (tono) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante 7 días.

	Tiempo (días)	CA	M45(L)A	M45(D)A	M45(L)V	M45(D)V	M45(L)MAP	M45(D)MAP
$a^*$	0	15,35±4,74 <sup>cE</sup>	8,03±1,87 <sup>bA</sup>	10,27±2,00 <sup>aC</sup>	12,86±2,65 <sup>aD</sup>	8,62±2,28 <sup>aAB</sup>	9,73±2,39 <sup>bBC</sup>	13,54±4,49 <sup>cDE</sup>
	3	12,00±2,79 <sup>bF</sup>	6,90±1,07 <sup>aB</sup>	9,03±2,65 <sup>aCD</sup>	10,93±4,00 <sup>aDE</sup>	8,50±2,38 <sup>aBC</sup>	3,43±1,99 <sup>aA</sup>	7,51±1,23 <sup>bB</sup>
	7	9,59±1,81 <sup>aC</sup>			11,38±2,30 <sup>aD</sup>	10,46±2,71 <sup>bCD</sup>	4,16±1,19 <sup>aA</sup>	5,83±1,44 <sup>aB</sup>
$C^*$	0	23,99±4,95 <sup>cC</sup>	16,24±1,87 <sup>bA</sup>	18,10±2,34 <sup>aB</sup>	22,09±3,19 <sup>aC</sup>	18,71±3,11 <sup>aB</sup>	18,39±2,13 <sup>cB</sup>	22,00±3,10 <sup>bC</sup>
	3	20,91±2,73 <sup>bE</sup>	14,88±2,15 <sup>aB</sup>	17,93±2,03 <sup>aC</sup>	22,01±3,68 <sup>aE</sup>	18,34±1,41 <sup>aD</sup>	12,25±3,93 <sup>aA</sup>	18,14±1,62 <sup>aCD</sup>
	7	18,21±2,81 <sup>aB</sup>			20,20±2,70 <sup>aC</sup>	18,64±2,11 <sup>aBC</sup>	14,94±1,09 <sup>aA</sup>	18,52±2,94 <sup>aBC</sup>
$H^*$	0	50,92±5,47 <sup>aA</sup>	60,32±5,30 <sup>aDE</sup>	55,05±6,48 <sup>aBC</sup>	54,45±4,47 <sup>aB</sup>	62,72±4,51 <sup>bE</sup>	58,31±5,44 <sup>aCD</sup>	52,60±9,03 <sup>aAB</sup>
	3	55,20±4,75 <sup>bA</sup>	61,98±4,54 <sup>aB</sup>	59,96±7,10 <sup>bB</sup>	60,30±8,35 <sup>bB</sup>	62,10±8,48 <sup>bBC</sup>	74,94±5,30 <sup>bD</sup>	65,35±4,36 <sup>bC</sup>
	7	58,40±1,83 <sup>cB</sup>			55,85±3,80 <sup>aA</sup>	56,11±6,49 <sup>aAB</sup>	73,97±3,71 <sup>bD</sup>	71,82±2,45 <sup>cC</sup>

\*Prueba t-Student. Para cada parámetro, los valores en filas (letras mayúsculas) y en columnas (letras minúsculas) seguidos con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

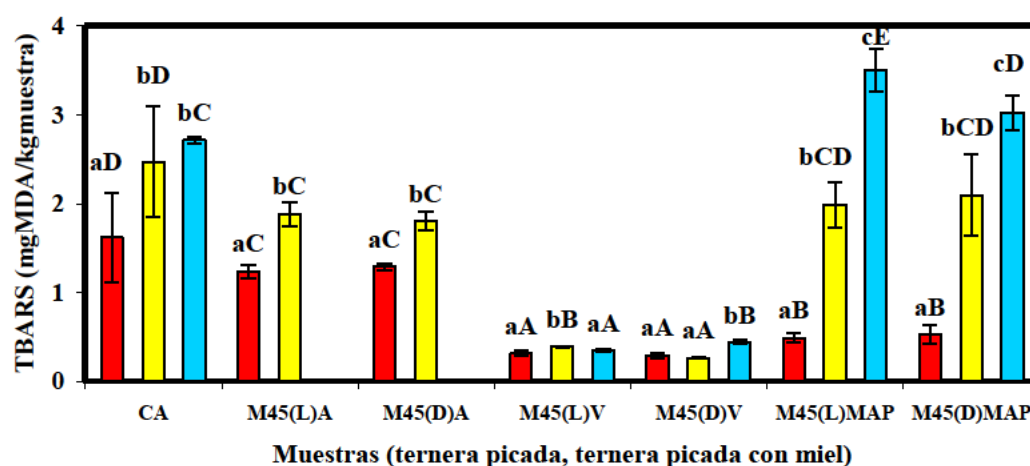
### 7.3.2. Efecto del empleo miel con distintos tipos de envasado sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada almacenada en refrigeración.

En general, los valores TBARS (mg MDA/ kg muestra) determinados en ternera picada envasada en aerobiosis (control) y ternera picada con un 15% (p/p) de miel (M45) envasada (aire, vacío o atmósfera modificada), aumentaron durante los 7 días de almacenamiento a 4 °C, siendo este aumento menor en las muestras envasadas a vacío y mayor en aquellas en atmósfera modificada (Figura 7.2). También Martínez *et al.* (2006) observaron, que a mayor concentración de O<sub>2</sub>, los valores TBARS de salchichas de cerdo envasadas bajo diferentes mezclas de gases y sus velocidades de incremento fueron más altas.

Además, el empleo de la miel de mielato y el envasado en aire o a vacío, ejercieron un efecto antioxidante sobre ternera picada envasada en aire (control) durante el almacenamiento, mientras que la adición de la miel y el envasado en atmósfera modificada no mostraron efecto sobre ternera picada envasada en aire (control) a los 3 días y los aumentaron respecto al control a los 7 días de conservación (Figura 7.2).

Entre los distintos tratamientos con miel, se observó que durante el almacenamiento, el envasado a vacío obtuvo los valores TBARS menores (Figura 7.2).

Lanari *et al.* (1995) observaron que la oxidación lipídica en chuletas de carne de cerdo envasadas en atmósfera modificada con alto O<sub>2</sub> aumentó comparados con aquellas envasadas en aire. Además, Esmer *et al.* (2011) observaron que la estabilidad oxidativa y el color de ternera picada envasada en atmósfera modificada fueron mejores conservadas en atmósferas que contenían concentraciones bajas de oxígeno (30% O<sub>2</sub>) que en concentraciones altas (70-50% O<sub>2</sub>). El aumento de la concentración de O<sub>2</sub> en MAP causa un desarrollo de la oxidación y por tanto, una disminución de la vida útil debido al desarrollo de la decoloración y un aroma extraño (Martínez *et al.*, 2006).



**Figura 7.2.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP), sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante 0, (■) 3 y (■) 7 días de almacenamiento. Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestras (letras mayúsculas), los valores seguidos con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

### 7.3.3. Efecto del empleo miel con distintos tipos de envasado sobre la carga microbiana de falda de ternera picada almacenada en refrigeración.

En general, los recuentos de AM y BAL (log ufc/ g muestra) determinados en las muestras de ternera picada envasada en aire (control) y en aquellas con un 15% (p/p) de miel (M45) envasadas en aire y a vacío, aumentaron durante el almacenamiento a 4 °C (Tabla 7.3). Sin embargo, en las muestras con miel en MAP, la carga microbiana permaneció estable (Tabla 7.3). La mayoría de las bacterias son más o menos inhibidas por el CO<sub>2</sub> y además, comparada con el envasado en aire, la velocidad de crecimiento es menor y la vida útil se incrementa (Borch *et al.*, 1996).

El empleo de la miel y el envasado (aerobiosis, vacío y atmósfera modificada), no mostraron ningún efecto sobre los recuentos de AM y BAL de ternera picada en refrigeración, excepto con la adición de miel en forma deshidratada y el envasado en atmósfera modificada, que los disminuyeron respecto al control durante el almacenamiento (Tabla 7.3). Entre los distintos tratamientos con miel de mielato, se observó que en general, la carga microbiana fue mayor en las muestras envasadas a vacío con miel líquida (Tabla 7.3). Además, los valores de ufc/g muestra de AM y BAL de las muestras evaluadas con miel y envasadas en aire y en atmósfera modificada fueron similares (Tabla 7.3) mientras que en otros estudios de conservación Esmer *et al.* (2011) observaron que los recuentos de microorganismos viables de ternera picada fueron más altos en el envasado aerobio que aquellos envasados en MAP.

**Tabla 7.3.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP) sobre los recuentos (log ufc/ g muestra) de microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y bacterias ácido lácticas (BAL) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante 7 días.

	Tiempo (días)	CA	M45(L)A	M45(D)A	M45(L)V	M45(D)V	M45(L)MAP	M45(D)MAP
AM	0	5,92±0,24 <sup>aAB</sup>	5,95±0,34 <sup>aB</sup>	6,01±0,33 <sup>aB</sup>	5,55±0,01 <sup>aA</sup>	5,58±0,16 <sup>aAB</sup>	6,33±0,17 <sup>aC</sup>	6,39±0,14 <sup>bC</sup>
	3	7,12±0,83 <sup>aAB</sup>	6,83±1,05 <sup>aAB</sup>	6,46±0,48 <sup>aA</sup>	7,33±0,08 <sup>bB</sup>	6,39±0,04 <sup>bA</sup>	6,32±0,03 <sup>aA</sup>	6,31±0,09 <sup>abA</sup>
	7	9,05±1,25 <sup>bBC</sup>			9,01±0,03 <sup>cC</sup>	8,45±0,04 <sup>cB</sup>	6,11±0,07 <sup>aA</sup>	6,12±0,02 <sup>aA</sup>
BAL	0	5,62±0,22 <sup>aAB</sup>	5,52±0,33 <sup>aAB</sup>	5,63±0,29 <sup>aAB</sup>	5,29±0,04 <sup>aAB</sup>	5,25±0,01 <sup>aA</sup>	5,68±0,50 <sup>aAB</sup>	5,54±0,23 <sup>abB</sup>
	3	6,89±0,94 <sup>bBDE</sup>	6,39±0,85 <sup>bCD</sup>	6,15±0,46 <sup>bABC</sup>	7,37±0,01 <sup>bE</sup>	6,38±0,03 <sup>bB</sup>	5,86±0,23 <sup>aCD</sup>	<b>5,73±0,04<sup>bAC</sup></b>
	7	7,23±0,09 <sup>bC</sup>			8,88±0,06 <sup>cE</sup>	8,57±0,07 <sup>cD</sup>	5,77±0,02 <sup>aB</sup>	<b>5,22±0,11<sup>aA</sup></b>

\*Prueba t-Student. Para cada parámetro, los valores en filas (letras mayúsculas) y en columnas (letras minúsculas) seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05).

### 7.3.4. Efecto del empleo de miel con distintos tipos de envasado sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada almacenada en refrigeración.

Los compuestos volátiles más representativos observados durante el almacenamiento de ternera picada (control) envasada en aire y almacenada a 4 °C durante 6 días, tal y como se observó en el capítulo 4 (apartado 4.3.5), fueron 3-hidroxi-2-butanona ( $575,07 \times 10^6$  UA, x37), 2,3-butanodiona ( $50,00 \times 10^6$  UA, x8), 3-metil-1-butanol ( $31,00 \times 10^6$  UA, x30), 1-hexanol ( $53,39 \times 10^6$  UA, x15), ácido acético ( $7,18 \times 10^6$  UA, x2) y ácido butanóico ( $3,17 \times 10^6$  UA, x2) (Tabla 7.4) (Pérez *et al.*, 2008), que en general aumentaron con el tiempo de conservación. Sin embargo, hexanal disminuyó

durante el almacenamiento hasta 70 veces (x70) (Tabla 7.4). Cambios en los compuestos volátiles durante el almacenamiento en refrigeración pueden mostrar deterioro químico, microbiano o enzimático en carne (Vinauskiene *et al.*, 2002). Así, el compuesto 3-hidroxi-2-butanona, puede proceder del metabolismo microbiano (Ardö, 2006; Kandler, 1983; Leroy *et al.*, 2009) aunque otros autores lo relacionan con la oxidación (Stetzer *et al.*, 2008)

En cuanto al efecto del empleo de un 15% (p/p) de la miel M45, (L) o (D), y el envasado (vacío y atmósfera modificada), sobre los principales compuestos volátiles generados durante el almacenamiento de ternera picada (control) se observó, que en general disminuyeron los valores de 3-metil-1-butanol (unas 8 veces a los 3 días y x31 a los 7 días), 3-hidroxi-2-butanona (x20 a los 3 días y x8 a los 7 días en el caso del envasado a vacío y x40 a los 3 días y alrededor de 200 veces a los 7 días para el envasado en atmósfera modificada) y 1-hexanol (x213 y x24 con miel líquida y x35 y x13 con la forma deshidratada con el envasado a vacío y x9 y x5 en el caso de MAP) (Tabla 7.4). Sin embargo, aumentaron los valores de hexanal ligeramente (x0,5-1,22) en el envasado a vacío y de 5 a 600 veces en MAP (Tabla 7.4).

El efecto sobre el resto de los compuestos principales fue distinto según el tipo de envasado (vacío o atmósfera modificada) (Tabla 7.4). Así, se observó que el empleo de miel y el envasado a vacío disminuyeron los valores de 2,3-butanodiona (21 veces a los 3 días y x7 al final del estudio con miel líquida y x50, x11 con la deshidratada), 1-pentanol (x26, x8 con miel líquida y x14, x5 con miel deshidratada), ácido acético (x10 a los 3 días y x7 al final del estudio) y el ácido butanóico (x3 a los 3 días) (Tabla 7.4). También, aumentaron los valores de otros compuestos que mostraron el área de pico mayor además de 3-hidroxi-2-butanona y que fueron acetona (de 2 a 3 veces) durante los 7 días y etanol (de 8 a 9 veces) a los 7 días de conservación, mientras que disminuyeron otros durante el almacenamiento como benzaldehído en torno a 2 veces y 2-metil-3-octanona (x5 y 0,5) (Tabla 7.4).

Sin embargo, el empleo de miel y el envasado en atmósfera modificada disminuyeron (de 2 a 3 veces) la señal de 2,3-butanodiona a los 3 días y la aumentó ligeramente (menos de 2 veces) a los 7 (Tabla 7.4). Asimismo, aumentaron el compuesto 1-pentanol (alrededor de 2 veces) a los 7 días de conservación, ácido acético (menos de 2 veces) a los 3 días y el ácido hexanóico (de 2 a 15 veces) a los tiempos

determinados (Tabla 7.4). Además, no mostraron efecto sobre los valores del ácido butanóico durante el estudio (Tabla 7.4). También aumentaron la señal de otros compuestos aunque éstos no obtuvieron el área de pico mayor como 2-metil-3-octanona (x6 a los 3 días y x50 con miel en forma (L) y x80 con la forma (D) a los 7 días) y benzaldehído (x3 y 6 veces), mientras que disminuyó etanol durante el almacenamiento (x5 y x7) (Tabla 7.4).

En cuanto a los distintos tratamientos, se observó que los valores de los compuestos de las muestras envasadas a vacío fueron menores que aquellos de las envasadas en atmósfera modificada durante el almacenamiento, excepto los valores de etanol y 3-hidroxi-2-butanona que fueron superiores a los tiempos determinados y los valores de acetona a los 3 días y ácido butanóico a los 7 días, que fueron similares en todas las muestras con miel (Tabla 7.4). Por tanto, el empleo de miel y el envasado (vacío o atmósfera modificada), disminuyeron la señal de 3-hidroxi-2-butanona de ternera picada envasada en aire durante 6 días (Tabla 7.4). Además, el empleo de miel y MAP aumentaron la señal de hexanal de ternera picada (control) (Tabla 7.4). Asimismo, el empleo de miel y el envasado a vacío aumentaron la señal de etanol (Tabla 7.4). El hexanal ha sido utilizado para monitorizar la oxidación lipídica, en jamón curado (Cava *et al.*, 1999) y en productos cárnicos (Shahidi, 1998). Este aldehído es un producto de la oxidación lipídica secundaria y el aldehído predominante, que juega un papel importante en el *flavor* oxidado de todas las carnes, en particular, de cerdo (Frankel *et al.*, 1984; Shahidi y Pegg, 1994b). Por otro lado, algunos alcoholes de bajo peso molecular, como etanol proceden de las fermentaciones microbianas (Kandler, 1983; Sunesen *et al.*, 2001). Los aldehídos tienen un gran impacto sobre el aroma del producto debido a que poseen umbrales de olor bajos (Muriel *et al.*, 2004). Por otro lado, Croizet *et al.* (1992) publicaron niveles de etanol altos en salchichas francesas curadas pero no contribuían de manera significativa al aroma del producto.

Entre los distintos tratamientos, las formas líquidas envasadas en aire y a vacío mostraron una mayor tendencia al color rojo que aquellas envasadas en atmósfera modificada. Además, el empleo de miel y el envasado a vacío ejercieron un efecto antioxidante mayor que con la adición de miel y el envasado en atmósfera modificada. También, el empleo de miel y el envasado en atmósfera modificada mostraron recuentos menores de AM y BAL que con la adición de miel y el envasado a vacío.

**Tabla 7.4.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)] o deshidratada [(D)], y el envasado en aire (A), a vacío (V) o en atmósfera modificada (MAP) sobre los compuestos volátiles de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y almacenada a 4 °C durante 7 días.

Muestra	CA	M45(L)V	M45(D)V	M45(L)MAP	M45(D)MAP	CA	M45(L)V	M45(D)V	M45(L)MAP	M45(D)MAP	CA	M45(L)V	M45(D)V	M45(L)MAP	M45(D)MAP
Tiempo (días)	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	6	7	7	7	7
Compuesto															
Acetona	13,42±1,8 <sup>bA</sup>	21,96±9,05 <sup>abcAB</sup>	32,20±3,91 <sup>cB</sup>	12,13±0,65 <sup>aA</sup>	14,62±0,99 <sup>aA</sup>	8,25±0,85 <sup>aA</sup>	17,28±0,47 <sup>cC</sup>	24,64±3,71 <sup>bcC</sup>	11,71±1,67 <sup>aB</sup>	23,86±10,78 <sup>aABC</sup>	9,53±0,92 <sup>aA</sup>	9,17±0,53 <sup>bA</sup>	21,52±2,85 <sup>bB</sup>	66,84±1,20 <sup>bC</sup>	67,39±3,13 <sup>bC</sup>
Etanol	4,84±0,81 <sup>aA</sup>	6,18±0,46 <sup>bB</sup>	5,22±0,70 <sup>aB</sup>	-----	-----	5,33±0,29 <sup>aA</sup>	5,05±0,34 <sup>aA</sup>	4,97±0,34 <sup>aA</sup>	-----	-----	7,53±1,02 <sup>bA</sup>	74,07±10,10 <sup>cB</sup>	59,52±11,32 <sup>bB</sup>	-----	-----
2,3-butano-diona	6,54±1,73 <sup>aB</sup>	1,64±0,45 <sup>aA</sup>	-----	5,84±4,07 <sup>aAB</sup>	1,44±0,62 <sup>aA</sup>	51,06±6,49 <sup>bD</sup>	2,40±0,54 <sup>aA</sup>	-----	21,76±1,73 <sup>bC</sup>	15,00±0,13 <sup>bB</sup>	42,41±3,67 <sup>bC</sup>	5,69±0,48 <sup>bB</sup>	3,62±0,29 <sup>aA</sup>	53,45±3,77 <sup>cD</sup>	38,86±1,44 <sup>cC</sup>
Hexanal	70,7±6,26 <sup>bB</sup>	-----	-----	189,27±16,94 <sup>aC</sup>	9,10±4,54 <sup>aA</sup>	32,92±8,10 <sup>aB</sup>	0,64±0,03 <sup>aA</sup>	-----	293,62±28,18 <sup>bC</sup>	182,90±58,02 <sup>bC</sup>	-----	0,50±0,08 <sup>aA</sup>	1,22±0,04 <sup>B</sup>	509,37±9,97 <sup>cC</sup>	604,67±1,42 <sup>dD</sup>
3-metil-1-butanol	-----	-----	-----	-----	-----	8,68±0,81 <sup>a</sup>	-----	-----	-----	-----	31,00±1,52 <sup>b</sup>	-----	-----	-----	-----
1-pentanol	24,05±2,71 <sup>bC</sup>	1,34±0,17 <sup>bA</sup>	2,54±0,22 <sup>abB</sup>	11,11±3,36 <sup>aAB</sup>	6,00±1,59 <sup>aAB</sup>	27,22±13,81 <sup>abC</sup>	1,02±0,11 <sup>bA</sup>	1,93±0,31 <sup>abB</sup>	14,31±0,32 <sup>abC</sup>	14,54±0,64 <sup>bC</sup>	12,59±0,92 <sup>aB</sup>	1,56±0,65 <sup>abA</sup>	2,43±0,30 <sup>bA</sup>	23,98±0,28 <sup>cC</sup>	27,56±0,46 <sup>cD</sup>
3-hidroxi-2-butanona	15,50±5,68 <sup>aAB</sup>	11,18±0,50 <sup>aA</sup>	13,00±0,70 <sup>aB</sup>	10,45±1,74 <sup>cAB</sup>	10,41±0,84 <sup>cA</sup>	308,99±28,09 <sup>bC</sup>	16,29±3,22 <sup>aB</sup>	12,16±0,86 <sup>aB</sup>	6,67±0,24 <sup>acA</sup>	7,54±0,24 <sup>bA</sup>	575,07±19,82 <sup>cD</sup>	66,93±7,45 <sup>bC</sup>	34,23±7,77 <sup>bB</sup>	3,90±0,94 <sup>abA</sup>	1,94±0,39 <sup>aA</sup>
2-metil-3-octanona	3,68±0,96 <sup>bA</sup>	-----	-----	14,28±9,51 <sup>abcA</sup>	2,87±0,89 <sup>aA</sup>	5,67±1,02 <sup>cB</sup>	-----	-----	38,79±3,57 <sup>cA</sup>	28,38±3,92 <sup>bcA</sup>	0,43±0,093 <sup>aA</sup>	-----	-----	21,21±1,61 <sup>bB</sup>	34,07±0,01 <sup>cC</sup>
1-hexanol	3,63±0,19 <sup>aB</sup>	-----	2,31±0,23 <sup>bcA</sup>	2,64±0,89 <sup>aAB</sup>	2,75±0,41 <sup>aA</sup>	53,39±4,05 <sup>cD</sup>	0,25±0,04 <sup>aA</sup>	1,52±0,05 <sup>aB</sup>	5,90±0,91 <sup>abC</sup>	5,73±0,42 <sup>bC</sup>	39,28±3,90 <sup>bD</sup>	1,15±0,50 <sup>aA</sup>	2,96±0,39 <sup>cB</sup>	6,96±0,09 <sup>bC</sup>	7,48±0,53 <sup>bC</sup>
Ácido acético	5,56±1,46 <sup>abB</sup>	0,42±0,01 <sup>aA</sup>	0,36±0,07 <sup>aA</sup>	6,40±0,55 <sup>aB</sup>	5,70±0,21 <sup>aB</sup>	3,86±0,37 <sup>aB</sup>	0,36±0,03 <sup>aA</sup>	0,38±0,05 <sup>aA</sup>	6,46±0,17 <sup>aC</sup>	7,11±0,08 <sup>bD</sup>	7,18±1,41 <sup>bA</sup>	-----	-----	8,41±0,13 <sup>bA</sup>	7,50±1,15 <sup>abcA</sup>
Benzaldehído	3,14±1,51 <sup>aA</sup>	-----	-----	1,82±1,22 <sup>aA</sup>	0,57±0,24 <sup>aA</sup>	2,02±1,44 <sup>aA</sup>	-----	-----	5,94±0,18 <sup>aB</sup>	4,30±0,27 <sup>bA</sup>	1,69±0,62 <sup>aA</sup>	-----	-----	11,15±0,21 <sup>bB</sup>	11,44±0,36 <sup>bB</sup>
Ácido butanóico	1,18±0,10 <sup>aB</sup>	0,86±0,04 <sup>aA</sup>	0,98±0,04 <sup>aAB</sup>	3,25±0,24 <sup>abC</sup>	2,38±0,23 <sup>aC</sup>	3,17±0,41 <sup>bBC</sup>	1,02±0,02 <sup>bA</sup>	1,10±0,11 <sup>aA</sup>	3,41±0,01 <sup>bC</sup>	2,69±0,08 <sup>aB</sup>	1,75±0,50 <sup>aA</sup>	3,33±1,32 <sup>abcAB</sup>	2,71±0,45 <sup>bAB</sup>	2,49±0,20 <sup>aAB</sup>	2,57±0,34 <sup>aB</sup>
Ácido hexanóico	4,42±0,24 <sup>bB</sup>	0,72±0,07 <sup>aA</sup>	1,07±0,23 <sup>aA</sup>	7,34±1,83 <sup>aB</sup>	3,43±1,72 <sup>aAB</sup>	5,48±0,74 <sup>cB</sup>	1,22±0,29 <sup>abA</sup>	1,04±0,26 <sup>aA</sup>	10,08±0,09 <sup>aC</sup>	10,43±0,46 <sup>bC</sup>	1,75±0,50 <sup>aA</sup>	1,66±0,44 <sup>abA</sup>	2,41±0,50 <sup>bA</sup>	27,83±0,87 <sup>bB</sup>	22,71±3,71 <sup>cB</sup>

\*Prueba t-Student. Para cada muestra (letras minúsculas) y tiempo de toma de muestra (letras mayúsculas) los valores en filas seguidos con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).





**Capítulo 8: Empleo de miel artesanal  
sobre la conservación de falda de ternera  
picada envasada, *cocinada* y almacenada  
en refrigeración**



## **8.1. INTRODUCCIÓN.**

### **8.1.1. Cocinado.**

La búsqueda de los consumidores por la comodidad, ha liderado el crecimiento de los platos cocinados totalmente, es decir, alimentos listos para comer (Johnston *et al.*, 2005; Rojas y Brewer, 2007). Las carnes cocinadas son susceptibles al deterioro de la calidad, particularmente la rancidez oxidativa (Rojas y Brewer, 2007). La oxidación lipídica se inicia durante el proceso de cocinado y continua durante el almacenamiento (Antony *et al.*, 2000). Por tanto, para mantener la calidad, salubridad y seguridad de las carnes cocinadas refrigeradas durante su almacenamiento y hasta su venta al consumidor, es necesario prevenir esta reacción (Naveena *et al.*, 2007; Rojas y Brewer, 2007). El uso de los antioxidantes es una medida de prevención o disminución de la rancidez oxidativa en carne de vacuno picada cocinada durante el almacenamiento (Smith y Alfawaz, 1995).

Los alimentos pueden ser objeto de algunos cambios químicos durante el tratamiento térmico (Turkmen *et al.*, 2006). Uno de ellos es el pardeamiento no enzimático producido durante la reacción de Maillard que tiene lugar cuando los

azúcares condensan con los aminoácidos libres y conducen a la formación de una variedad de pigmentos marrones (Antony *et al.*, 2006; Turkmen *et al.*, 2006). Esta reacción produce compuestos que tienen propiedades antioxidantes (Dawson y Mathew, 2000), los productos de la reacción de Maillard (Maillard Reaction Products, MRPs) que se producen cuando las carnes son expuestas a temperaturas altas (Decker y Mei, 1996). Las propiedades antioxidantes de los MRPs dependen de las propiedades físico-químicas del sistema y de las condiciones del procesado (Turkmen *et al.*, 2006). Antony *et al.* (2002) verificaron el efecto antioxidante de MRPs como miel-lisina en una emulsión de ácido linoléico y además mostraron que comparado con la miel, ésta tuvo un efecto antioxidante mayor que el MRP sintetizado sobre la carne. Smith y Alfawaz (1995) publicaron que los MRPs procedentes de hidrolizado ácido de albúmina de huevo y glucosa tienen una actividad antioxidante potente, que puede retardar la rancidez oxidativa en carne de vacuno picada cocinada durante su almacenamiento a 4 °C durante 8 días. El incremento del tratamiento térmico lleva al desarrollo de la actividad antioxidante que tiene beneficios positivos de la miel sobre la salud humana debido a la formación de los MRPs, pero el pardeamiento no es deseable por los consumidores (Turkmen *et al.*, 2006).

El pardeamiento prematuro de la carne durante la cocción consiste en la aparición de un color marrón antes de que la temperatura microbiológicamente segura se haya alcanzado, por lo que el color de la carne cocinada no es un buen indicador de una cocción adecuada (King y Whyte, 2006; McMillin, 2008). La estabilidad microbiológica de los productos cárnicos cocinados curados depende de factores extrínsecos, principalmente el método de envasado y la temperatura de almacenamiento y de factores intrínsecos como la composición del producto (Borch *et al.*, 1996). Se necesita un cocinado adecuado de la carne para inactivar los patógenos microbianos. Esto es particularmente importante para los productos cárnicos picados y alguna variedad de la carne donde los patógenos pueden presentarse internamente (King y Whyte, 2006). Como los productos cárnicos curados cocinados son calentados a una temperatura de 65-75 °C, la mayoría de células vegetativas se inactivan y la recontaminación del tratamiento poscalentamiento determina la vida útil (Borch *et al.*, 1996; Vermeiren *et al.*, 2005).

### 8.1.2. Características sensoriales.

La miel es un producto natural con características sensoriales variables debido al origen y diversidad de sus constituyentes (Gonnet y Vache, 1973; Persano *et al.*, 1995). El aroma de la miel depende tanto de los factores ambientales, las condiciones de procesado y almacenamiento, como de la composición del néctar o mielato donde se origina (Soria *et al.*, 2005).

Por otro lado, los consumidores demandan productos con una alta calidad, concretamente la carne, además de a un precio razonable (Stetzer *et al.*, 2008). Los atributos sensoriales por los que los consumidores juzgan la calidad de la carne y por tanto afectan su aceptabilidad son la apariencia (Liu *et al.*, 1995b), la ternura, la textura y el *flavor* (Liu *et al.*, 1995b; Robbins *et al.*, 2003a, 2003b).

Entre ellas, la más importante es la apariencia visual o color de los alimentos cárnicos que influye en la decisión de compra del consumidor (AMSA, 1991; Carpenter *et al.*, 2001; Faustman y Cassens, 1990). Los consumidores prefieren la carne de vacuno con un color rojo antes que púrpura y después el marrón (Carpenter *et al.*, 2001; McMillin, 2008).

El *flavor* de la carne de vacuno y de los productos cárnicos procede de los compuestos volátiles de los sabores y olores (MacLeod, 1994; Ramarathnam y Rubin, 1994). Los productos cárnicos, las aves de corral y el pescado son productos muy deseados por su *flavor* característico y apreciado (Gray *et al.*, 1996). Los procesos térmicos inducen el desarrollo del “*flavor* a sobrecalentado o recalentado” (warmed over flavor, WOF) en la carne y los productos cárnicos cocinados (Sato y Hegarty, 1971). El WOF se caracteriza por la pérdida de aroma fresco a carne cocinada y un simultáneo incremento de olores indeseables descritos como añejo, cartulina húmeda, pintado, hierba o rancio (Campo *et al.*, 2006; Love, 1988; St. Angelo *et al.*, 1988; St. Angelo *et al.*, 1987; Tims y Watts, 1958). Por lo tanto, es esencial controlar la oxidación lipídica para retrasar el desarrollo de WOF ya que es una de las principales causas del deterioro de los productos cárnicos (Juntachote *et al.*, 2006). Para minimizar el desarrollo de este *flavor* extraño se han evaluado varias estrategias como los envasados a vacío y en atmósfera modificada y el uso de antioxidantes en la dieta de los animales y en el producto final (Antony *et al.*, 2006).

La oxidación lipídica puede determinarse mediante medidas sensoriales y medidas químicas como el método de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, TBARS) que puede ser un agente capaz de pronosticar la percepción de la rancidez (McMillin, 2008). Un valor TBARS de 2 mg/kg de carne podría ser considerado como el punto límite donde el *flavor* a rancio sobrepasa al *flavor* a carne de vacuno y por tanto, podría ser el nivel máximo para la percepción sensorial positiva de la carne de vacuno (Campo *et al.*, 2006). Por encima de ese valor, puede esperarse el rechazo de la carne de vacuno debido a una percepción sensorial fuerte de la oxidación lipídica (Campo *et al.*, 2006).

El principal objetivo de este estudio fue determinar el posible efecto beneficioso (antioxidante y antimicrobiano) de la adición de la miel sobre falda de ternera picada *cocinada* en distintos estados de conservación (aire o aerobiosis, vacío y atmósfera modificada), así como la apreciación sensorial por parte del consumidor.

## **8.2. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **8.2.1. Muestras.**

Falda de ternera picada (músculo *Cutaneous trunci*) se obtuvo en un supermercado. Se utilizó la miel artesanal, M45. La miel de mielato, M45, en forma líquida [(L)], se añadió en un 15% (p/p) a falda de ternera picada (Figura 8.1).

Las muestras se introdujeron en bolsas de plástico de 20/80  $\mu\text{m}$  (Rilthene L) y se envasaron en aerobiosis, a vacío o en atmósfera modificada (70%  $\text{O}_2$ /30%  $\text{CO}_2$ ). A continuación, se *cocinaron* en un baño de agua (memmert) a 80 °C durante 45 min. Posteriormente, se enfriaron en un baño de hielo y se almacenaron a 4 °C. Las muestras se analizaron a tiempos 0, 3, 7, 14 y 21 días (Figura 8.1).

**8.2.2. Análisis físico-químicos de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente cocinadas y almacenadas en refrigeración.**

**8.2.2.1. Medida de los valores de pH de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente cocinadas y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de pH de las distintas muestras (Figura 8.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.4.1 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

**8.2.2.2. Medida del color de las muestras cocinadas y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los parámetros del color L\*(luminosidad), a\* (tendencia al rojo), b\* (tendencia al amarillo), Chroma o C\*(saturación) y Hue o H\* (tono) de las distintas muestras (Figura 8.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.4.3 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

**8.2.3. Medida de la oxidación lipídica de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente cocinadas y almacenadas en refrigeración.**

Se midieron los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de las distintas muestras (Figura 8.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.5 del capítulo 4. Los análisis se realizaron por triplicado.

**8.2.4. Análisis microbiológico de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente cocinadas y almacenadas en refrigeración.**

Se realizaron recuentos en placa de microorganismos aerobios mesófilos totales (AM) y bacterias ácido lácticas (BAL) de las distintas muestras (Figura 8.1), siguiendo la metodología del apartado 4.2.6 del capítulo 4. Además, se realizaron los recuentos de enterobacterias (ENT) mediante alícuotas sobre el medio VRBG (agar Bilis-Rojo Violeta con Glucosa, CULTIMED, Madrid, España) y para hongos filamentosos y levaduras (HyL) se utilizó el medio RB (Rosa Bengala, CULTIMED). Las ENT se

incubaron a 37 °C durante 48 h mientras que los HyL a 25 °C durante 5 días. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **8.2.5. Estudio estructural de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente *cocinadas* y almacenadas en refrigeración.**

Se realizó un estudio de la microestructura de falda de ternera picada y de falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel M45, en forma líquida ([L]), tras ser envasadas en aire o a vacío o en atmósfera modificada y posteriormente cocinadas y almacenadas a 4 °C. Este análisis se llevó a cabo siguiendo la metodología del apartado 4.2.8 del capítulo 4. Las muestras se analizaron a 0 y 21 días.

#### **8.2.6. Análisis sensorial de las muestras envasadas en aire, posteriormente *cocinadas* y almacenadas en congelación.**

Se cocinaron en un baño a 80 °C durante 45 min falda de ternera picada y falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel M45, en forma líquida [(L)], tras ser envasadas en aerobiosis. Las muestras se congelaron a -35 °C hasta el día de la cata. Antes de la cata, se calentaron las muestras durante 30 s en un microondas (Fagor).

Se realizó una pequeña encuesta sensorial a 10 catadores con nociones de análisis sensorial. El análisis constaba de una prueba subjetiva en una escala de 9 puntos, donde el nº 1 correspondía a “me desagrada muchísimo” y el nº 9 a “me gusta muchísimo” (Tabla 8.1) (de Lorenzo *et al.*, 2002; Piñero *et al.*, 2005). En la prueba se evaluaban distintos atributos de las muestras como color, apariencia, jugosidad, aroma, sabor y opinión general (abajo indicada). Además se les preguntó sobre la detección de los sabores básicos (de Lorenzo *et al.*, 2002; Piñero *et al.*, 2005).

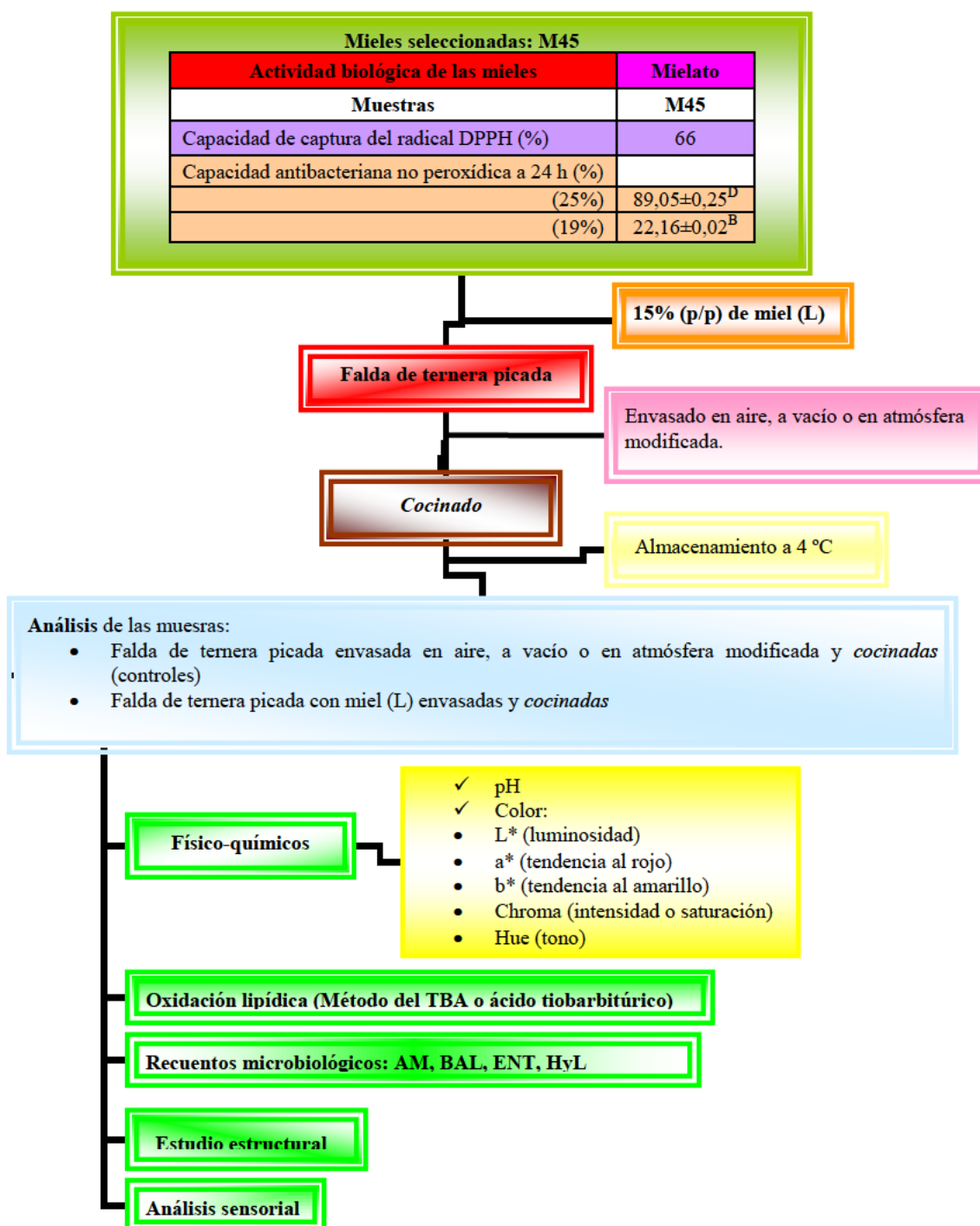
**Tabla 8.1.** Escala de 9 puntos de cada uno de los atributos sensoriales evaluados.

Atributo sensorial
1. Me desagrada muchísimo
2. Me desagrada mucho
3. Me desagrada bastante
4. Me desagrada un poco
5. Ni me agrada ni me desagrada
6. Me gusta un poco
7. Me gusta bastante
8. Me gusta mucho
9. Me gusta muchísimo



### 8.2.7. Análisis estadístico.

Para cada parámetro, las medias fueron comparadas mediante la prueba t-Student con el programa Excel (versión 2002). En una parte de los resultados del análisis sensorial (detección de sabores básicos) se realizó la prueba Chi-cuadrado. Las diferencias fueron consideradas significativas para  $p < 0,05$ .



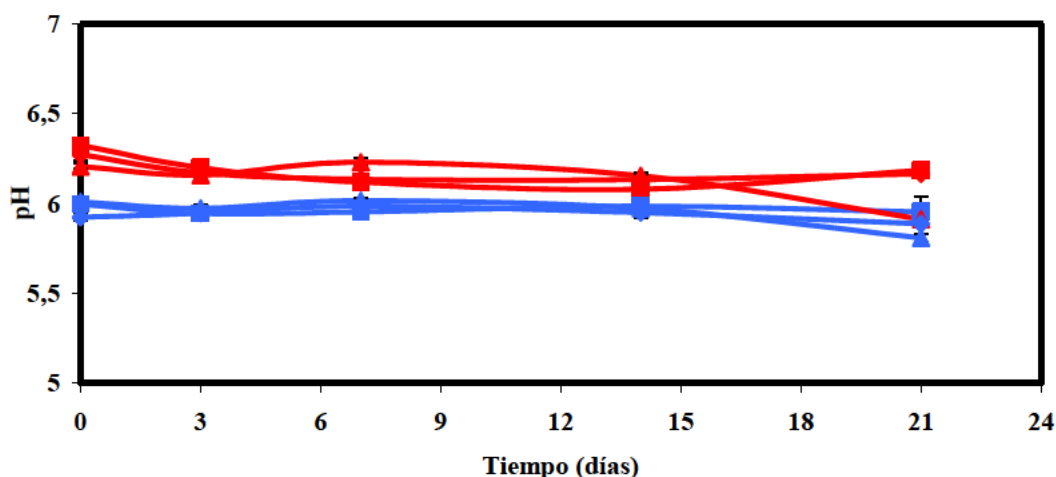
**Figura 8.1.** Esquema de la metodología utilizada en este capítulo.

### 8.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 8.3.1. Efecto del empleo de la miel sobre los parámetros físico-químicos de falda de ternera picada envasada en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente *cocinada* y almacenada en refrigeración.

En general, los valores de pH evaluados en las muestras de ternera picada (controles) y en aquellas con un 15% (p/p) de miel (M45), envasadas (aire, vacío o atmósfera modificada) y cocinadas, disminuyeron ligeramente durante los 21 días de almacenamiento (Figura 8.2). La disminución de los valores de pH durante el almacenamiento coinciden con la observada por Antony *et al.* (2006) en carne de pavo envasado a vacío y con distintos porcentajes (5 y 15%) de miel en polvo. Sin embargo, otros autores no observaron cambios significativos del valor de pH durante el tiempo de conservación, en carne de pollo así como con distintos porcentajes de miel (5, 10 y 15%) (Naveena *et al.*, 2007) ni en roast beef (Cheng y Ockerman, 2003).

En cuanto al efecto del empleo de la miel de mielato, se observó que disminuyó el valor de pH respecto a todos los controles durante el almacenamiento (Figura 8.2). Sin embargo, esta disminución significativa de pH con el empleo de miel no fue observada por Naveena *et al.* (2007) aunque la miel redujera ligeramente el pH. En otros estudios de conservación, el empleo de miel (5 y 10%) junto con otros ingredientes (mezcla de especias) disminuyeron los valores de pH en carne de pollo cocinada y congelada (Alabdulkarim *et al.*, 2012). Además, en estudios de mantenimiento o preservación con otras sustancias antioxidantes, al contrario que en nuestros resultados, el tripolifosfato de sodio incrementó el valor de pH de roast beef (Cheng y Ockerman, 2003) y los extractos de semilla de uva, de orégano o la oleoresina de romero, no afectaron los valores de pH de la carne (Rojas y Brewer, 2007).



**Figura 8.2.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida (—) sobre los valores de pH de falda de ternera picada (control) (—) envasada en aire (■), a vacío (▲) o en atmósfera modificada (◆) y posteriormente *cocinadas* y almacenadas a 4 °C durante 21 días.

### 8.3.1.1. Efecto del empleo de la miel sobre el color de falda de ternera picada envasada en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente *cocinada* y almacenada en refrigeración.

En general, se observó en las muestras de ternera picada envasadas (aerobiosis, vacío o atmósfera modificada) y cocinadas (controles), que la luminosidad (valor  $L^*$ ) y el pardeamiento (valor  $H^*$ ) aumentaron ligeramente, la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) disminuyó y la tendencia al amarillo (valor  $b^*$ ) y la saturación del color (valor  $C^*$ ) permanecieron estables durante los 21 días de almacenamiento (Tabla 8.2). Además, la luminosidad (valor  $L^*$ ), la tendencia al amarillo (valor  $b^*$ ) y la saturación del color (valor  $C^*$ ) de las muestras con un 15% (p/p) de miel M45 (L) en las mismas condiciones del estudio aumentaron, la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) disminuyó y el pardeamiento (valor  $H^*$ ) permaneció estable con el tiempo de conservación (Tabla 8.2).

En lo referente al efecto del empleo de la miel de mielato, en general se observó que disminuyó ligeramente los valores de luminosidad ( $L^*$ ), tendencia al rojo (valor  $a^*$ ), al amarillo (valor  $b^*$ ), la saturación del color (valor  $C^*$ ) y el pardeamiento (valor  $H^*$ ) respecto a sus respectivos controles (aire, vacío y atmósfera modificada) durante el tiempo de estudio (Tabla 8.2). Como excepciones, observamos que la adición de miel no mostró efecto sobre la tendencia al rojo (valor  $a^*$ ) de ternera picada envasada en atmósfera modificada a tiempos cortos de conservación (3 y 7 días), mientras que a

tiempos largos de conservación (14 y 21 días) la aumentó ligeramente y no mostró efecto sobre el valor  $a^*$  de ternera picada envasada a vacío (Tabla 8.2).

Sin embargo, Naveena *et al.* (2007) publicaron que la adición de miel a carne de pollo disminuyó la luminosidad y el ángulo Hue e incrementó la tendencia al rojo, amarillo y los valores Chroma comparados con el control y las muestras con vitamina C. Dawson y Acton (2000) observaron que la adición de un 10% de miel en forma líquida o deshidratada a pechuga de pavo disminuyó los valores de L, a y el ángulo Hue. Antony *et al.* (2006) publicaron que la adición de miel en polvo (5 y 15%) sobre carne de pavo envasada a vacío confirió una tonalidad oscura. Además, la adición de un 15% de miel aumentó el valor  $b^*$  seguida de las muestras con un 5% de miel y por último el control (Antony *et al.*, 2006). En estudios de conservación con la adición de otras sustancias, Rojas y Brewer (2007) observaron que el extracto de orégano, oleoresina de romero o extracto de semilla de uva no ejerció ningún efecto sobre la tendencia al rojo (CIE  $a^*$ ) y al amarillo (CIE  $b^*$ ) de carne de cerdo y carne de vacuno mientras que las muestras con el extracto soluble de orégano mostraron valores  $b^*$  más altos.

**Tabla 8.2.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)], sobre los valores de color L\* (luminosidad), a\* (rojo), b\* (amarillo), Chroma o C\* (saturación) y Hue o H\* (tono) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A), a vacío (V) y en atmósfera modificada (MAP), posteriormente *cocinadas* y almacenadas a 4 °C durante 21 días.

	Tiempo (días)	CA	M45(L)A	CV	M45(L)V	CMAP	M45(L)MAP
L*	0	52,73±3,09 <sup>ab</sup>	50,02±2,50 <sup>aA</sup>	53,23±3,34 <sup>ab</sup>	49,52±4,34 <sup>aA</sup>	53,78±2,79 <sup>ab</sup>	48,53±4,31 <sup>aA</sup>
	3	54,73±3,92 <sup>bc</sup>	49,94±2,53 <sup>aA</sup>	57,73±3,34 <sup>bcD</sup>	54,13±4,58 <sup>bcBC</sup>	56,19±4,60 <sup>bcD</sup>	52,49±4,75 <sup>dB</sup>
	7	52,26±4,40 <sup>abAB</sup>	52,15±7,17 <sup>abAB</sup>	57,26±3,73 <sup>bcC</sup>	53,77±4,08 <sup>cb</sup>	63,25±4,21 <sup>cD</sup>	49,81±3,64 <sup>abA</sup>
	14	53,73±2,83 <sup>abB</sup>	51,27±5,10 <sup>abA</sup>	58,28±5,17 <sup>cC</sup>	52,01±2,98 <sup>bA</sup>	61,62±7,44 <sup>cD</sup>	52,80±7,56 <sup>cdAB</sup>
	21	53,32±5,35 <sup>abB</sup>	53,55±8,29 <sup>bABC</sup>	55,97±4,94 <sup>bcd</sup>	50,62±2,70 <sup>aA</sup>	57,02±3,24 <sup>bD</sup>	50,79±1,76 <sup>bcA</sup>
a*	0	7,36±0,61 <sup>cE</sup>	5,36±0,51 <sup>aB</sup>	6,30±0,71 <sup>cCD</sup>	6,32±0,61 <sup>cD</sup>	6,01±0,81 <sup>dC</sup>	4,88±0,52 <sup>cA</sup>
	3	5,89±0,85 <sup>bc</sup>	5,33±0,51 <sup>aB</sup>	5,12±0,78 <sup>aB</sup>	5,77±0,57 <sup>bc</sup>	3,55±1,07 <sup>cA</sup>	3,94±0,35 <sup>aA</sup>
	7	5,91±0,61 <sup>bD</sup>	5,36±1,60 <sup>abC</sup>	5,78±0,55 <sup>bcD</sup>	5,41±0,72 <sup>aB</sup>	4,12±1,37 <sup>cA</sup>	4,46±0,58 <sup>bA</sup>
	14	5,47±0,43 <sup>aC</sup>	6,12±0,47 <sup>bD</sup>	5,50±0,72 <sup>bc</sup>	5,65±0,60 <sup>abC</sup>	2,46±0,45 <sup>aA</sup>	4,72±0,62 <sup>cB</sup>
	21	5,93±0,77 <sup>bD</sup>	5,26±1,55 <sup>abC</sup>	5,82±0,84 <sup>bcD</sup>	5,61±0,58 <sup>abBC</sup>	2,93±0,45 <sup>bA</sup>	5,44±0,81 <sup>dB</sup>
b*	0	18,58±1,35 <sup>abC</sup>	16,60±0,98 <sup>aA</sup>	18,04±0,98 <sup>bB</sup>	16,35±1,15 <sup>aA</sup>	19,31±1,45 <sup>bD</sup>	16,41±1,47 <sup>abA</sup>
	3	19,30±1,17 <sup>cC</sup>	16,59±1,00 <sup>aA</sup>	17,41±1,13 <sup>aB</sup>	16,93±1,50 <sup>abAB</sup>	17,80±2,61 <sup>aB</sup>	16,74±1,29 <sup>bcA</sup>
	7	18,04±1,37 <sup>aC</sup>	15,99±3,67 <sup>aA</sup>	17,23±1,08 <sup>aB</sup>	16,54±1,53 <sup>aA</sup>	19,87±2,14 <sup>bcD</sup>	16,04±1,70 <sup>aA</sup>
	14	18,15±1,87 <sup>aC</sup>	17,57±1,59 <sup>bBC</sup>	17,20±1,34 <sup>aB</sup>	16,48±1,19 <sup>aA</sup>	19,74±1,57 <sup>bD</sup>	16,26±1,27 <sup>abA</sup>
	21	19,10±1,50 <sup>bcC</sup>	16,15±2,53 <sup>aA</sup>	18,01±2,96 <sup>abB</sup>	17,37±0,83 <sup>bB</sup>	20,43±1,10 <sup>cD</sup>	17,20±1,07 <sup>cB</sup>
C*	0	20,00±1,28 <sup>bc</sup>	17,45±1,05 <sup>aA</sup>	19,12±1,02 <sup>bB</sup>	17,54±1,21 <sup>aA</sup>	20,23±1,55 <sup>bcC</sup>	17,13±1,52 <sup>aA</sup>
	3	20,19±1,20 <sup>bD</sup>	17,43±1,07 <sup>aAB</sup>	18,17±1,07 <sup>aC</sup>	17,89±1,55 <sup>abBC</sup>	18,17±2,70 <sup>aABC</sup>	17,20±1,29 <sup>aA</sup>
	7	18,97±1,43 <sup>aC</sup>	16,87±3,95 <sup>aAB</sup>	18,18±1,06 <sup>aA</sup>	17,40±1,65 <sup>aB</sup>	20,32±2,27 <sup>bcD</sup>	16,65±1,75 <sup>aA</sup>
	14	18,96±1,88 <sup>aC</sup>	18,61±1,61 <sup>bBC</sup>	18,08±1,22 <sup>aB</sup>	17,43±1,23 <sup>aA</sup>	19,89±1,57 <sup>bD</sup>	16,94±1,32 <sup>aA</sup>
	21	20,02±1,47 <sup>bc</sup>	17,01±2,81 <sup>aA</sup>	18,94±3,00 <sup>aB</sup>	18,26±0,88 <sup>bB</sup>	20,64±1,14 <sup>cD</sup>	18,05±1,12 <sup>bAB</sup>
H*	0	68,31±2,23 <sup>aA</sup>	72,12±1,17 <sup>bc</sup>	70,75±1,89 <sup>aB</sup>	68,86±1,54 <sup>aA</sup>	72,74±1,75 <sup>aC</sup>	73,43±1,25 <sup>aD</sup>
	3	73,02±2,28 <sup>cC</sup>	72,18±1,17 <sup>bB</sup>	73,57±2,72 <sup>cC</sup>	71,15±1,28 <sup>bA</sup>	78,76±2,56 <sup>bE</sup>	76,72±1,18 <sup>cd</sup>
	7	71,83±1,62 <sup>bA</sup>	72,16±3,46 <sup>bA</sup>	71,42±1,81 <sup>abA</sup>	71,91±1,13 <sup>cA</sup>	78,39±3,15 <sup>bc</sup>	74,45±1,29 <sup>bB</sup>
	14	73,13±1,33 <sup>cBC</sup>	70,74±1,28 <sup>aA</sup>	72,15±2,87 <sup>bB</sup>	71,07±1,68 <sup>bA</sup>	82,89±1,21 <sup>dD</sup>	73,80±1,76 <sup>abC</sup>
	21	72,68±2,37 <sup>bcA</sup>	72,32±3,47 <sup>bA</sup>	71,76±2,73 <sup>abA</sup>	72,11±1,57 <sup>cA</sup>	81,85±0,96 <sup>cB</sup>	72,45±2,33 <sup>aA</sup>

\*Prueba t-Student. Para cada parámetro, los valores en filas (letras mayúsculas) y en columnas (letras minúsculas) seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05).

### 8.3.2. Efecto del empleo de la miel sobre la oxidación lipídica de falda de ternera picada envasada en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente *cocinada* y almacenada en refrigeración.

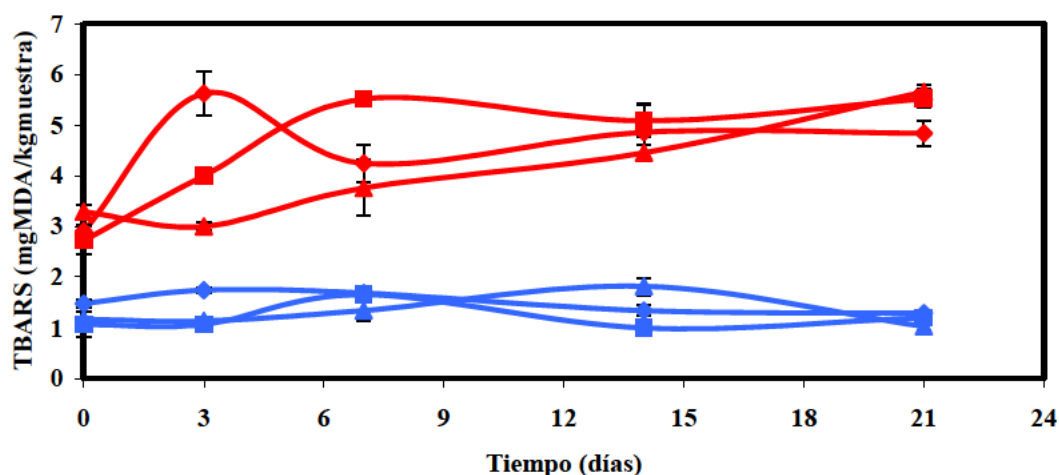
En general, los valores TBARS (mg MDA/ kg muestra) evaluados en las muestras de ternera picada envasadas (aire, vacío o atmósferas modificadas) y cocinadas (controles), aumentaron durante los 21 días de almacenamiento a 4 °C, mientras que en aquellas con un 15% (p/p) de miel M45 (L) en las mismas condiciones del estudio,

permanecieron estables (Figura 8.3). También, Lagerstedt *et al.* (2007) observaron que la carne picada envasada en altos niveles de oxígeno incrementaron los niveles TBARS durante 8 días a 4 °C.

En cuanto al efecto del empleo de miel sobre los valores TBARS de ternera picada cocinada, se observó que los disminuyó respecto a los controles durante el almacenamiento (Figura 8.3). Al igual que en nuestro estudio, otros autores también han observado este efecto antioxidante con el empleo de miel a distintos porcentajes (5, 10 y 15%) en carne de pollo (Naveena *et al.*, 2007) y carne de vacuno (Johnston *et al.*, 2005). Asimismo, Antony *et al.* (2006) observaron que los valores medios de TBA fueron más bajos para la carne de pavo envasada a vacío con miel añadida (5 y 15%) mostrando los valores menores con un 15%. En otros estudios de conservación con otras sustancias además de la miel, otros autores como Alabdulkarim *et al.* (2012) mostraron que los valores TBARS fueron menores en los grupos de carne de pollo cocinados y congelados tratados con miel (5 o 10%) y especias comparados con las muestras no tratadas con miel. También, Sampaio *et al.* (2012) mostraron la efectividad de antioxidantes (orégano, salvia y miel) al reducir la oxidación lipídica en carne de pollo cocinada después de 48 y 96 h a 4 °C.

Por otro lado, en estudios de conservación con el uso de otras sustancias, Rojas y Brewer (2007) observaron que la adición de oleoresina de romero o los extractos de semilla de uva o de orégano a carne de vacuno y de cerdo, no mostraron variación en los niveles TBARS del 1<sup>er</sup> al 4<sup>o</sup> día, pero al 8<sup>o</sup> día presentaron los valores más altos para todos los tratamientos, mostrando las muestras con extracto de semilla de uva los valores más bajos. Cheng y Ockerman (2003) informaron que con la adición de distintas concentraciones de tripolifosfato de sodio sobre roast beef, el control presentó valores TBARS más altos comparados con otros conteniendo polifosfato. En cuanto a la efectividad de las mieles frente a otras sustancias utilizadas como antioxidantes, Johnston *et al.* (2005) observaron que las mieles no retrasan la formación de productos de oxidación secundaria tan efectivamente como el tripolifosfato de sodio. Además, Naveena *et al.* (2007) informaron que el tratamiento con vitamina C obtenía valores menores de TBA comparado con la muestra control y las que contenían miel. Sin embargo, McKibben y Engeseth (2002) mostraron que la efectividad de miel de soja (5%) fue mucho mayor para la reducción de los valores TBARS de la carne en el 3<sup>er</sup> día

de almacenamiento a 4 °C que  $\alpha$ -tocoferol y BHT al 0,02%, por lo que la miel parece ser una buena fuente de antioxidantes naturales, además de conferir *flavor* a la carne. Sampaio *et al.* (2012) observaron con el empleo de salvia, orégano y miel en carne de pollo cocinada un efecto antioxidante mejor que con la adición de BHT después de 96 h a 4 °C. Además, Antony *et al.* (2002) publicaron que los valores TBA fueron menores en carne de pavo cocinada con miel (5 y 15%) que con MRPs (miel-lisina) añadidos.



**Figura 8.3.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida (—) sobre los valores de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de falda de ternera picada (control) (—) envasada en aire (■), a vacío (▲) y en atmósfera modificada (◆), posteriormente *cocinadas* y almacenadas a 4 °C durante 21 días.

### 8.3.3. Efecto del empleo de miel sobre la carga microbiana de falda de ternera picada envasada en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente *cocinada* y almacenada en refrigeración.

En general, los recuentos microbianos (AM, BAL; ENT, HyL) evaluados en las muestras de ternera picada (controles) y en aquellas con un 15% (p/p) de miel (M45) (L), envasadas (aerobiosis, vacío o atmósfera modificada) y cocinadas, fueron bajos (Tabla 8.3). El recuento máximo fue 4,30 log ufc/g muestra durante el almacenamiento de 21 días (Tabla 8.3). Cheng y Ockerman (2003) observaron recuentos bacterianos bajos en muestras de roast beef no envasadas. Del mismo modo, Antony *et al.* (2006) publicaron recuentos bacterianos bajos en carne de pavo envasada a vacío a 4 °C y almacenada durante 11 semanas, mostrando aquellas muestras con un 15% de miel un pequeño o no crecimiento bacteriano ( $<10^2$  ufc/g). Además, en general el empleo de

miel no mostró efecto sobre la carga microbiana de ternera picada cocinada almacenada a 4 °C, que alcanzó valores de 4,00 log ufc/g de muestra (Tabla 8.3).

**Tabla 8.3.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida [(L)], sobre los recuentos (log ufc/g muestra) de microorganismos aerobios mesófilos totales (AM), bacterias ácido lácticas (BAL), enterobacterias (ENT) y hongos filamentosos y levaduras (HyL) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A), a vacío (V) y en atmósfera modificada (MAP) y posteriormente cocinadas y almacenadas a 4 °C durante 21 días.

	Tiempo (días)	CA	M45(L)A	CV	M45(L)V	CMAP	M45(L)MAP
<b>AM</b>	0	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	3,85±0,23 <sup>b</sup>
	3	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	3,83±0,52 <sup>ab</sup>
	7	<3,00	3,63±0,29 <sup>A</sup>	3,89±0,63 <sup>aA</sup>	3,20±0,17 <sup>aA</sup>	3,48±0,43 <sup>aA</sup>	3,50±0,71 <sup>abA</sup>
	14	<3,00	<3,00	4,30±0,00 <sup>aB</sup>	3,00±0,00 <sup>aA</sup>	3,00±0,00 <sup>aA</sup>	<3
	21	4,09±0,28 <sup>B</sup>	<3,00	3,83±0,49 <sup>aAB</sup>	3,20±0,17 <sup>aA</sup>	3,50±0,58 <sup>aAB</sup>	3,43±0,19 <sup>aA</sup>
<b>BAL</b>	0	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00
	3	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	3,50±0,28 <sup>a</sup>
	7	<3,00	3,80±0,14 <sup>A</sup>	<3,00	3,15±0,21 <sup>aA</sup>	<3,00	<3,00
	14	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00
	21	<3,00	<3,00	<3,00	3,15±0,21 <sup>aA</sup>	<3,00	4,00±0,00 <sup>aB</sup>
<b>ENT</b>	0,3,7,14,21	<2,00	<2,00	<2,00	<2,00	<2,00	<2,00
<b>HyL</b>	0,3,7,14,21	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00	<3,00

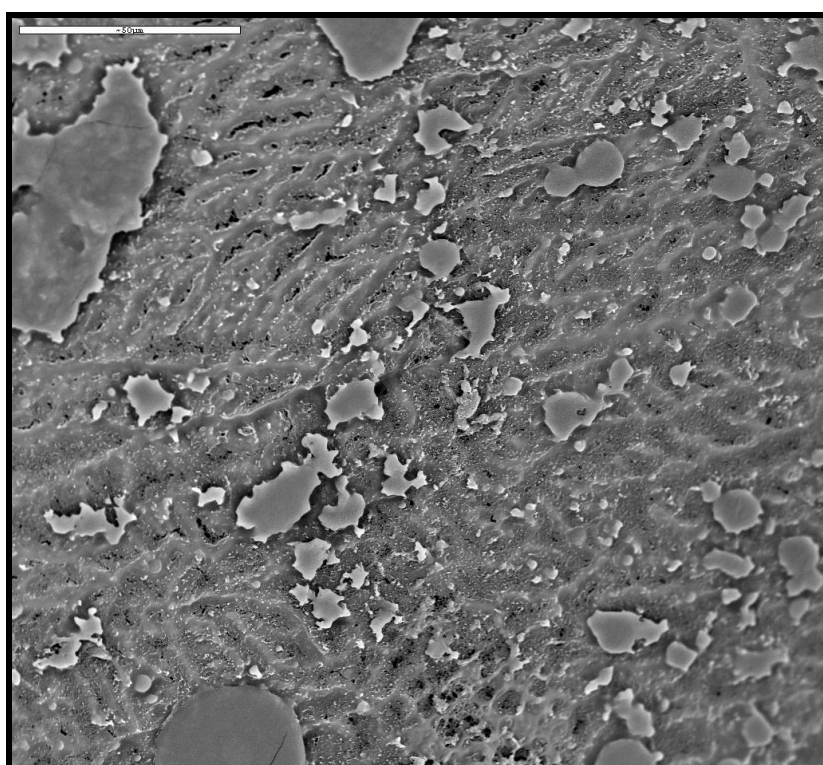
\*Prueba t-Student. Para cada parámetro, los valores en filas (letras minúsculas) y en columnas (letras mayúsculas) seguidos con letras distintas son significativamente diferentes (p<0,05).

#### 8.3.4. Estudio estructural de las muestras envasadas en aire, a vacío o en atmósfera modificada, posteriormente *cocinada* y almacenada en refrigeración.

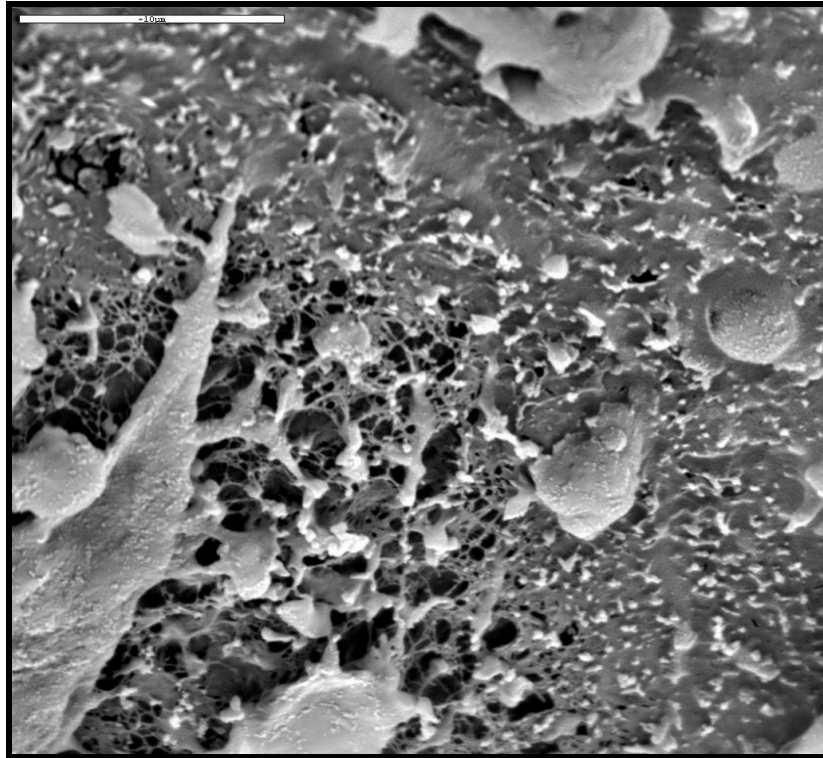
En el estudio de la microestructura realizado en las muestras de ternera picada envasadas en aerobiosis y cocinadas, se observó a los 0 días, que la grasa se encontraba más distribuida y condensada (Figura 8.4.A) y que el tratamiento térmico había inducido una destrucción y una desorganización estructural (Figura 8.4.B). Además, no se apreció presencia microbiana (Figura 8.4.B). Sin embargo, tras 21 días de almacenamiento a 4 °C, se observó que la estructura de la carne picada estaba muy deteriorada y había presencia de algunos microorganismos (Figura 8.4.C). Szerman *et al.* (2012) también observaron en carne de vacuno picada un aspecto deshidratado, con una estructura desorganizada.



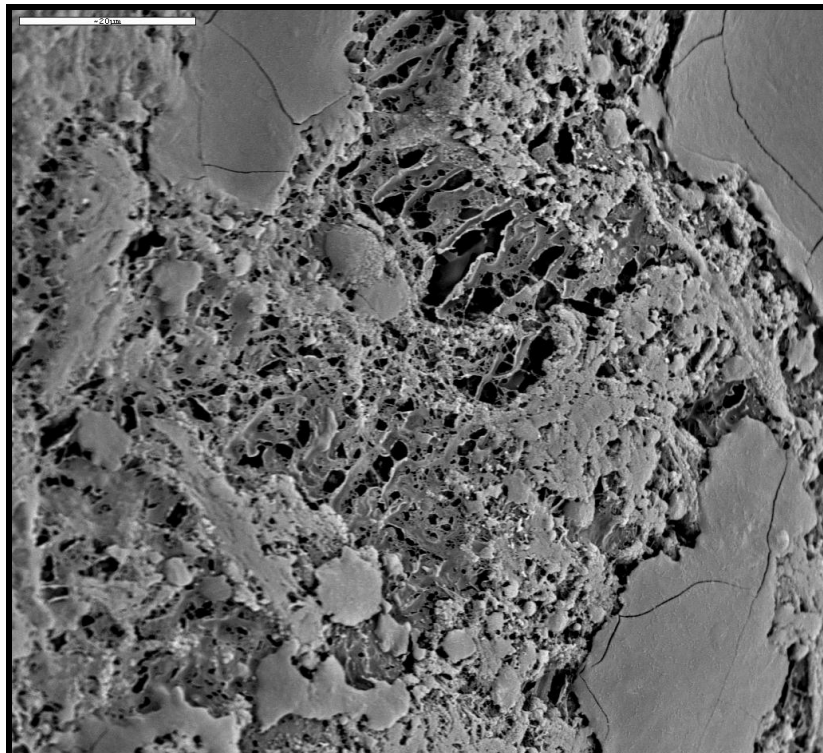
En las muestras con un 15% (p/p) de miel M45 (L), envasadas (aire, vacío o atmósfera modificada) y cocinadas, se observó a los 21 días de almacenamiento a 4 °C, que aquellas envasadas en aerobiosis presentaban fibras cárnicas desnaturalizadas por el cocinado y la presencia microbiana (Figura 8.5.A). Por el contrario, en las muestras con miel envasadas a vacío (Figura 8.5.B) y en atmósfera modificada (Figura 8.5.C) no se apreciaron microorganismos. La microestructura nos proporciona información de características de los alimentos como son la composición química y la distribución de sus componentes, las características estructurales y la presencia de contaminantes o de microorganismos (Orrego, 2002).



A. Superficie (x500)

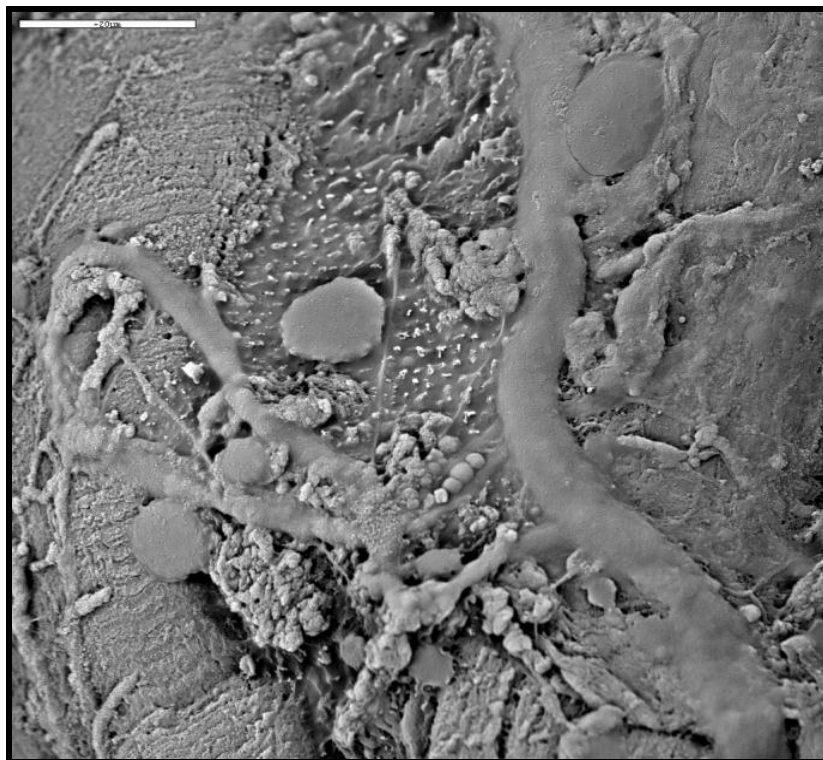


B. Superficie (x3000)

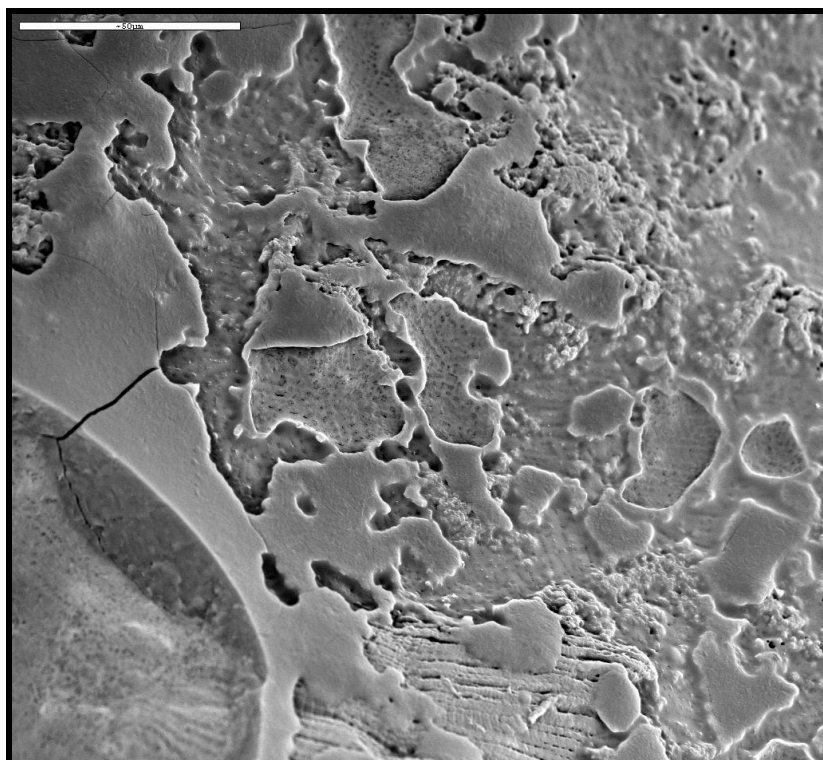


C. Superficie (x1000)

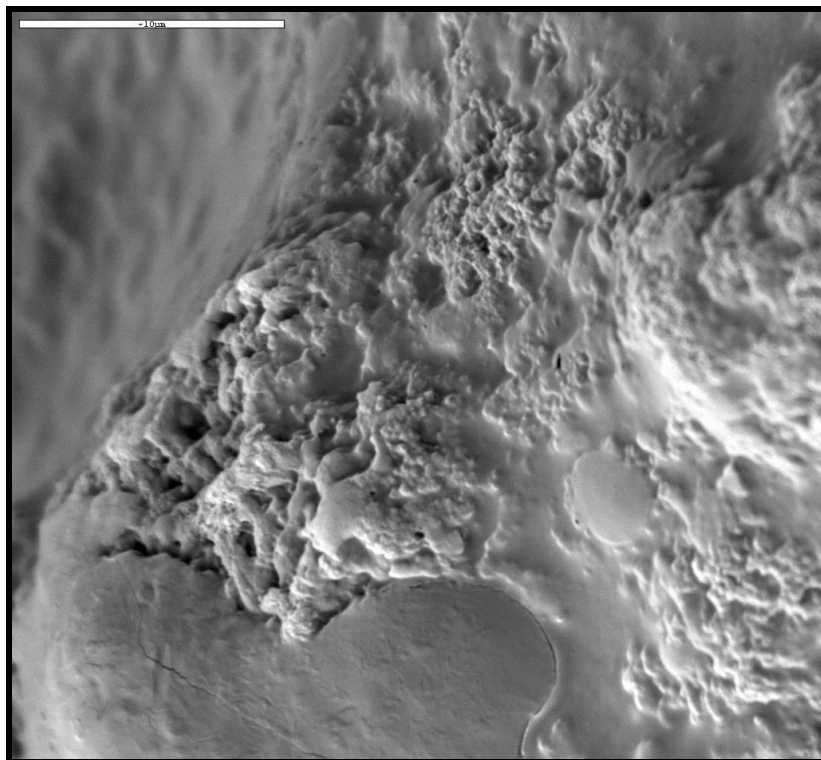
**Figura 8.4.** Micrografías de la microestructura de carne picada (control) envasada en aire y posteriormente cocinada y almacenada a 4 °C a 0 (A y B) y a 21 días (C).



A. Superficie (x2000)



B. Superficie (x500)



C. Superficie (x3000).

**Figura 8.5.** Micrografías de la microestructura de carne picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida **A.** envasada en aire, **B.** a vacío y **C.** en atmósfera modificada y posteriormente cocinadas y almacenadas a 4 °C durante 21 días.

### **8.3.5. Apreciación sensorial de las muestras envasadas en aire, posteriormente cocinadas y almacenada en congelación.**

El estudio de apreciación sensorial realizado en ternera picada así como con un 15% (p/p) de miel M45 en forma líquida, envasadas en aire y cocinadas, mostró, que los atributos sensoriales para los dos tipos de muestras alcanzaron valores desde “me desagrada muchísimo” hasta “me gusta mucho” (Tabla 8.4).

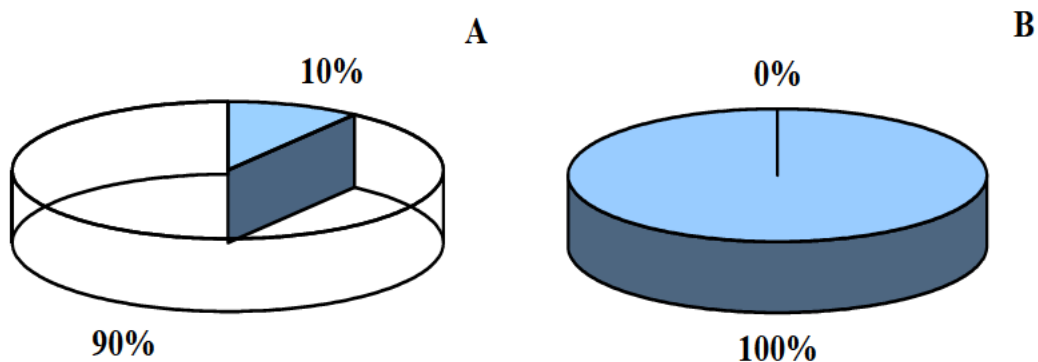
Entre las distintas características sensoriales evaluadas, el color y el sabor gustaron del mismo modo (Tabla 8.4). Sin embargo, los atributos aroma (Figura 8.6 y Tabla 8.4) y apariencia fueron ligeramente mejor considerados en las muestras con miel (Tabla 8.4). Al contrario que en nuestros resultados, Naveena *et al.* (2007) mostraron que las muestras con miel añadida en los porcentajes más altos (10 y 15%) confirieron a la carne un fuerte aroma que disgustaba a los catadores de manera significativa. Además, estos autores observaron que los tratamientos con miel (5, 10 y 15%) en la carne mejoraron la apariencia comparados con la muestra control y aquellas con vitamina C.

En cuanto a las características de nuestras muestras del estudio, la jugosidad y la opinión general gustó ligeramente más en las muestras de ternera picada (control) que en aquellas con miel (Tabla 8.4). También Alabdulkarim *et al.* (2012) publicaron que las marcas de jugosidad de carne de pollo congelada mostraron los valores más altos y aquellas con un 10% de miel mostraron el último valor. Sin embargo, Naveena *et al.* (2007) no observaron diferencias en la jugosidad entre las distintas muestras (carne de pollo, con vitamina C añadida y con distintos porcentajes de miel).

En cuanto a la detección de los sabores básicos (dulce, salado, ácido y amargo) en las muestras del estudio, se observó que el sabor dulce era dependiente de la adición de miel, al contrario que para el resto de sabores básicos (amargo, salado y ácido) (Figura 8.7, Tabla 8.5). Los catadores detectaron de la misma manera los cuatro sabores básicos en carne; sin embargo, con miel añadida, no detectaron otro sabor que no fuera el dulzor (Figura 8.6, Tabla 8.5). Otros autores han descrito un sabor dulce fuerte y mayor con el empleo de miel en carne (Antony *et al.*, 2006; Dawson y Acton, 2000; Naveena *et al.* 2007). Además, Naveena *et al.* (2007) publicaron que la carne con un 5% de miel fueron más aceptadas comparadas con las otras muestras (carne de pollo, así como con vitamina C añadida o porcentajes de miel más altos).



**Figura 8.6.** Aroma en falda de ternera picada envasada en aire y *cocinada*, **A**, y en falda de ternera picada con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida envasada en aire, **B**.



**Figura 8.7.** Detección de sabor dulce en **A**. falda de ternera picada envasada en aire y *cocinada*, y **B**. con un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida. ■ SÍ, □ NO.

**Tabla 8.4.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45), en forma líquida [(L)], sobre los parámetros sensoriales de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A), posteriormente *cocinada*, congelada (-35 °C) y recalentada.

Muestras	Color		Aroma		Apariencia		Sabor		Jugosidad		Opinión general	
	CA	M45 (L)A	CA	M45 (L)A	CA	M45 (L)A	CA	M45 (L)A	CA	M45 (L)A	CA	M45 (L)A
Me desagrada muchísimo	---	1	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---
Me desagrada mucho	1	---	1	---	---	---	---	---	1	---	---	---
Me desagrada bastante	---	---	---	---	1	---	---	2	---	1	---	3
Me desagrada un poco	4	4	---	1	6	2	2	---	---	2	3	1
Ni me agrada ni me desagrada	3	2	3	1	1	3	2	2	2	2	3	1
Me gusta un poco	2	2	3	6	1	3	3	4	4	2	1	2
Me gusta bastante	---	---	2	1	---	1	2	1	3	3	3	2
Me gusta mucho	---	1	1	1	---	---	1	1	---	---	---	1
Me gusta muchísimo	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

**Tabla 8.5.** Efecto del empleo de un 15% (p/p) de miel de mielato (M45) en forma líquida (L) sobre la detección de sabores básicos (dulce, salado, amargo y ácido) de falda de ternera picada (C) envasada en aire (A) y posteriormente *cocinada*, congelada (-35 °C) y recalentada.

Muestra	Dulce		Salado		Amargo		Ácido	
	CA	M45(L)A	CA	M45(L)A	CA	M45(L)A	CA	M45(L)A
<b>SÍ</b>	1*	<b>10*</b>	1	0	1	0	1	0
<b>NO</b>	9*	<b>0*</b>	9	10	9	10	9	10

Prueba Chi-cuadrado. Las muestras están relacionadas\* ( $p < 0,05$ ).

Este ensayo es tan sólo una pequeña idea subjetiva de lo que podría considerar respecto este producto un consumidor. Lo ideal, para el futuro, sería realizar un ensayo así con un número mayor de personas y obtener mayor información gracias a la posible heterogeneidad de las respuestas.

En general, el empleo de la miel M45 en forma líquida mostró un efecto antioxidante sobre falda de ternera picada en los distintos envasados y los recuentos microbianos no fueron muy altos, aunque la miel no ejerciera un efecto antibacteriano.





## **Capítulo 9: Conclusiones**



1. La miel artesanal, no pasterizada, con actividad biológica antioxidante y antimicrobiana, puede actuar como conservante natural para carne picada de ternera en estado crudo y, especialmente, en precocinados.
2. El empleo de miel en porcentajes del 5 al 19% en peso, independientemente de su origen botánico, actividad biológica y estado físico (líquida o deshidratada) aportó acidez a carne picada de ternera cruda durante un período de conservación de 21 días y con independencia de su modo de envasado (aerobiosis, vacío o atmósfera modificada).
3. El empleo de mieles clasificadas por su origen floral como mielatos y biológicamente activas, en un porcentaje de 5 al 19% en peso, modificó los parámetros de color de carne picada de ternera cruda, a lo largo de todo el período de conservación de 21 días, disminuyendo el color rojo y aumentando el pardeamiento, independientemente del estado físico de la miel y del tipo de envasado de la carne.
4. Por el contrario, el empleo de mieles clasificadas por su origen floral como florales y poco o nada biológicamente activas, en porcentajes del 5 al 19% en peso, no modificaron los parámetros de color de ternera picada cruda en los momentos iniciales de la conservación, independientemente del estado físico de la miel y del tipo de envasado de la carne.
5. El efecto antioxidante de la aplicación de miel en porcentajes del 15-19% en peso sobre carne de ternera picada cruda es independiente del estado físico de la misma, líquida o deshidratada, pero se encuentra relacionado con su origen botánico. Así, las mieles de mielato ensayadas han sido más activas en controlar la formación de sustancias TBA-reactivas en períodos largos de conservación e incluso en envasado en condiciones fuertemente oxidativas (envasado en atmósfera modificada con alto porcentaje de oxígeno). Las mieles florales controlaron la formación de sustancias TBA-reactivas únicamente al principio del período de conservación (3 días) en condiciones aerobias.
6. Independientemente de la actividad antibacteriana de las mieles medida *in vitro*, así como de su origen floral, el efecto de la aplicación de miel en porcentajes del

15 al 19% en peso en carne de ternera picada cruda es función del estado físico de la miel (líquida o deshidratada) y del sistema de conservación.

- Así en condiciones de conservación en **aerobiosis**, tanto mieles de mielato como florales, en forma líquida y deshidratada, mostraron *efecto inhibidor* de las poblaciones de mesófilos totales y bacterias ácido lácticas.
  - En condiciones de conservación a **vacío**, sólo mieles de mielato, en forma líquida y deshidratada, controlaron las poblaciones de mesófilos totales y de bacterias ácido lácticas pero *únicamente al inicio* del período de conservación (3 días).
  - En condiciones de conservación en **atmósfera modificada** con alto porcentaje de oxígeno, las mieles de mielato aplicadas en *forma deshidratada no mostraron ningún efecto* sobre las poblaciones bacterianas, en tanto que la *aplicación en forma líquida se tradujo en un incremento de las poblaciones* de mesófilos totales y bacterias ácido lácticas *en tiempos largos de conservación* y en relación al control de carne picada sin miel añadida.
7. La aplicación de miel a carne picada de ternera cruda en porcentajes del 15-19% en peso produce modificaciones del perfil volátil de la misma a lo largo de un período de estudio de 21 días y en relación a la carne picada control sin adición de miel, con independencia del estado físico de la miel (líquida o deshidratada) y del envasado de la carne (aerobiosis, vacío o atmósfera modificada).
- No aparece correlación entre los compuestos volátiles encontrados y el origen botánico de la miel aplicada o su estado físico.
  - En las muestras envasadas en condiciones de **aerobiosis** la aplicación de miel controla el crecimiento de la señal del compuesto 3-hidroxi-2-butanona. Además, parece haber diferencias en la ruta degradativa según el estado físico de la miel. Así, la aplicación de un 19% en peso de mieles en *forma líquida* aumenta la señal del compuesto ácido acético indicando que la principal vía de degradación bajo estas condiciones es microbiana. Sin embargo, la adición de este mismo porcentaje de miel en *forma*

*deshidratada* aumentó la señal del compuesto hexanal, sugiriendo, que la principal vía de degradación bajo estas condiciones fue la oxidativa.

- Por el contrario, en las muestras envasadas a **vacío**, la aplicación de miel produjo la aparición de diferentes compuestos volátiles entre los que destacan el etanol, ácido acético y 3-hidroxi-2-butanona, dependiendo de la miel empleada y sugiriendo que, bajo estas condiciones, la principal ruta de degradación fue la microbiana.

- En las muestras envasadas en **atmósfera modificada de alto contenido en oxígeno**, la aplicación de miel aumentó la señal del compuesto hexanal, indicando que bajo estas condiciones de conservación, la principal vía de degradación es oxidativa.

8. El empleo de miel de mielato en porcentaje del 15% en peso y en estado líquido sobre carne de ternera picada cocinada a 80 °C y almacenada durante un período de conservación de 21 días con independencia de su modo de envasado (aerobiosis, vacío o atmósfera modificada):

- Aportó acidez.
- Disminuyó la luminosidad, la tendencia al rojo y el pardeamiento.
- Produjo un *descenso muy significativo de la oxidación* medida como formación de sus TBA-reactivas.
- No tuvo un marcado efecto antibacteriano en relación al control sin miel.

9. Según la apreciación sensorial de un panel de catadores, el empleo de miel de mielato en porcentaje del 15% en peso y en estado líquido mantuvo el color y confirió mejor apariencia y aroma a carne de ternera picada cocinada a 80 °C, almacenada durante una semana en refrigeración, posteriormente congelada y finalmente recalentada.

10. En cuanto a la aplicación de **miel** sobre carne de ternera picada **cruda**, añadida en un porcentaje aproximado en un 15% en peso y añadida en forma líquida o

deshidratada, ejerce un *efecto conservante* por su actividad antimicrobiana y antioxidante durante *3 días de almacenamiento en refrigeración y en envasado a vacío*.

11. El principal inconveniente que presenta la aplicación de miel como conservante en carne de ternera picada es la modificación del color rojo brillante, lo que puede influir negativamente en la decisión de compra. Por ello su aplicación sería adecuada únicamente en platos en los que la presencia de la carne picada no fuera evidente, como lasañas, preparados para fritura, pizzas, etc.
12. La aplicación de miel con actividad biológica antioxidante y antibacteriana, en porcentajes aproximados de un 15% en peso a carne de ternera picada cocinada a 80 °C y mantenida en refrigeración durante un período de hasta 21 días, con independencia de su modo de envasado, ejerce un efecto conservante sobre la misma en comparación con los controles sin miel.
13. La aplicación de miel en las condiciones descritas a carne picada de ternera cocinada puede utilizarse en la elaboración de platos precocinados listos para terminar en parrilla, plancha o cocción, como hamburguesas, albóndigas, filetes rusos y otros preparados. La adición de miel aumenta el período de conservación y aporta palatabilidad a las preparaciones.

## **Capítulo 10: Referencias bibliográficas**





## A

- Addis, P.B. y Park, S.W. (1989). "Role of lipid oxidation products in atherosclerosis". En: S.L. Taylor & R.A. Scanlan (Eds.). *Food toxicology: a perspective on the relative risks* (pp. 297-330). New York: Marcel Dekker.
- Ahn, J., Grün, I.U. y Fernando L.N. (2002). "Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef". *J. Food Sci.* 67(4): 1364-1369.
- Ahn, J., Grün, I.U. y Mustapha, A. (2007). "Effects of plants extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef". *Food Microbiol.* 24: 7-14.
- Ahn, D.W., Wolf, F.H., Sim, J.S. y Kim, D.H. (1992). "Packaging cooked turkey meat patties while hot reduces lipid oxidation". *J. Food Sci. Off. Publ. Inst. Food Technol.* 57(5): 1075-1077, 1115.
- Al, M.L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L. y Bogdanov, S. (2009). "Physico-chemical and bioactive proprieties of different floral origin honeys from Romania". *Food Chemistry* 112: 863-867.
- Alabdulkarim, B., Bakeet, Z.A.N. y Arzoo, S. (2012). "Effect of frying oils on quality characteristics of frozen chicken patties incorporated with honey". *African Journal of Biotechnology* 11(12): 2938-2944.
- Aljadi, A.M. y Kamaruddin, M.Y. (2004). "Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys". *Food Chem.* 85(4): 513-518.
- Allen, J.C. y Hamilton, R.J. (1983). "Rancidity in foods". London, Applied Science Publishers.
- Allen, K.L., Molan, P.C. y Reid, G.M. (1991) "A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys". *J. Pharm. Pharmacol.* 43:817-822.
- Al-Mamary, M., Al-Meer, A. y Al-Habori, M. (2002). "Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey". *Nutr. Res.* 22(9): 1041-1047.
- Álvarez-Suárez, J., Tulipani, S., Díaz, D., Estévez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damián, E., Astolfi, P., Bompadre, S. y Battino, M. (2010a). "Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds". *Food Chem. Toxicol.* 48: 2490-2499.

- Álvarez Suárez, J.M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. y Battino, M. (2010b). "Contribution of honey in nutrition and human health: a review". *Mediterr. J. Nutr. Metab.* 3: 15-23.
- Amiot, M.J., Aubert, S., Gonnet, M. y Tacchini, M. (1989). "Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles". *Apidologie* 20: 115-125.
- Andargarchew, M., Belay, T. y Fetene, D. (2004). "In vitro assessment of the antimicrobial potential of honey on common human pathogens". *Ethiop. J. Health Dev.* 18: 107-111.
- Anklam, E. y Radovic, B.S. (2001). "Suitable analytical methods for determining the origin of European honey". *Am. Lab.* 7:60-64.
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S. y Robards, K. (2002). "Critical review. Methods for testing antioxidant activity". *Analyst* 127: 183-198.
- Antony, S., Rieck, J.R., Acton, J.C., Han, I.Y., Halpin, E.L. y Dawson, P.L. (2006). "Effect of dry honey on the shelf life of packaged turkey slices". *Poult. Sci.* 85: 1811-1820.
- Antony, S., Rieck, J.R. y Dawson, P.L. (2000). "Effect of dry honey on oxidation in turkey breast meat". *Poultry Science* 79: 1846-1850.
- Antony, S.M., Han, I.Y., Rieck, J.R. y Dawson, P.L. (2002). "Antioxidative effect of Maillard reaction products added to turkey meat during heating by addition of honey". *Journal of Food Science* 67(5): 1719-1724.
- Ara Roldán, A. (2004). "Los grandes remedios naturales". 2ª Edición. Editorial EDAF S.A. Madrid.
- Ardö, Y. (2006). "Flavour formation by amino acid catabolism". *Biotechnol. Adv.* 24: 238-242.
- Arthur, C.L. y Pawliszyn, J. (1990). "Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers". *Anal. Chem.* 62: 2145-2148.
- Asensio, M.A., Ordóñez, J.A. y Sanz, B. (1988). "Effect of carbon dioxide and oxygen enriched atmosphere on the shelf-life of refrigerated pork in plastic bags". *J. Food Protect.* 51(5): 356-360.
- Asghar, A., Gray, J.I., Buckley, D.J., Pearson, A.M. y Booren, A.M. (1988). "Perspectives on warmed over flavor". *Food Technol.* 42(6): 102-8.

- Ayres, J.C. (1960). "Temperature relationship and some other characteristics of the microbial flora developing on refrigerated meat". Food Research 25: 1-18.
- Azeredo, L.C., Azeredo, M.A.A., Souza, S.R. y Dutra, V.M.L. (2003). "Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins". Food Chem. 80: 249-254.

## B

- Badawy, O.F.H., Shafii S.S.A., Tharwat, E.E. y Kamal, A.M. (2004). "Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection". Rev. Sci. Tech. Off int. Epiz, 23(3): 1011-1022.
- Bailey, M.E., Shin-Lee, S.Y., Dupuy, H.P., St Angelo A.J. y Vercelloti, J.R. (1987). "Inhibition of Warmed-Over Flavor of Meat Products". En: Warmed Over Flavor of Meat. A.J. St. Angelo and M.E. Bailey, ed. Academic Press, Inc; Orlando, F. L. P 237.
- Balasubramanian, S. y Panigrahi, S. (2011). "Solid-Phase Microextraction (SPME) Techniques for Quality Characterization of Food Products: A Review". Food Bioprocess Technol. 4: 1-26.
- Bardy, J., Slevin, N.J., Mais, K.L., Molassiotis, A. (2008). "A systematic review of honey uses and its potential value within oncology care". J. Clin. Nurs. 17: 2604-2623.
- Bartkowski, L., Dryden, F.D. y Marchello, J.A. (1982). "Quality changes of beef steaks stored in controlled gas atmosphere containing high or low levels of oxygen". J. Food Protect. 45(1): 41-45.
- Batrušaitytė, V., Venskutonis, P.R. y Ceksterytė, V. (2007). "Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts". Food Chemistry 101: 502-514.
- Becker, E.M., Nissen, L.R. y Skibsted, L.H. (2004). "Review. Antioxidant evaluation protocols : Food quality or health effects". Eur. Food Res. Technol. 219: 561-571.
- Belitz, H.D. y Grosch, W. (1997). "Química de los alimentos". 2ª Edición. Ed. Acirbia. Zaragoza.

- Bell, R.G. (2001). "Meat packaging: Protection, preservation, and presentation". En Y.H. Hui, Wai-Kit Nip, RW. Rogers, & O.A. Young (Eds.), Meat Science and applications (pp. 463-490). New York, Basel: Marcel Dekker.
- Bello Gutiérrez, J. (2000). "Ciencia Bromatológica: principios generales de los alimentos". Ediciones Díaz de Santos S.A. Madrid.
- Bengsch, E. (1992). "Connaissance du miel. Des-oligo-éléments pour la santé". Rev. franc. Apicult. 569: 383-386.
- Bentabol Manzanares, A., Hernández García, Z., Rodríguez Galdón, B., Rodríguez Rodríguez E. y Díaz Romero, C. (2011). "Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition". Food Chemistry 126: 664-672.
- Berdagué, J.L., Monteil, P., Montel, M.C. y Talon, R. (1993). "Effects of starter cultures on the formation of flavor compounds in dry sausage". Meat Sci. 35: 275-287.
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M. y Maffei Facino, R. (2005). "Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics". An. Chimica Acta 533: 185-191.
- Bertoneclj, J., Golob, T., Kropf, U. y Korošec, M. (2011). "Characterisation of Slovenian honeys on the basis of sensory and physicochemical analysis with a chemometric approach". Int. J. Food Sci. and Technol. 46:1661-1671.
- Biswal, B.M., Zakaria, A. y Ahmad, N.M. (2003). "Topical application of honey in the management of radiation mucositis: a preliminary study". Supportive Care in Cancer 11: 242-248
- Björkroth, K.J., Vandamme, P. y Korkeala, H.J. (1998). "Identification and characterization of *Leuconostoc carnosus*, associate with production and spoilage of vacuum-packaged, sliced, cooked ham". Appl. Environ. Microbiol. 64: 3313-3319.
- Blakistone, B.A. (1998). "Meats and Poultry". En B.A. Blakistone. Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods (2<sup>nd</sup>. Ed. Pp. 240-290). London: Blackie Academic & Professional (Chapter 10).

- Blakistone, B.A. (1999b). "Meats and poultry". En B.A. Blakistone (Ed.), Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods (pp. 240-290). Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers.
- Blasa, M., Candiracci, M. y Accorsi, A. (2006). "Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants". Food Chemistry 97: 217-222.
- Blickstad, E., Enfors, S.O. y Molin, G. (1981). "Effect of hyperbaric carbon dioxide pressure on the microbial flora of pork stored at 4 or 14 °C". J. Appl. Bacteriol. 50: 493-504.
- Blickstad, E. y Molin, G. (1983b). "The microbial flora of smoked pork loin and frankfurter sausage stored in different atmospheres at 4 °C". J. Appl. Bacteriol. 54: 45-56.
- Blickstad, E. y Molin, G. (1984). "Growth and end-product formation in fermenter cultures of *Brochothrix thermosphacta* ATCC 11509<sup>T</sup> and two psychrotrophic *Lactobacillus* spp. in different gaseous atmospheres". J. Appl. Bacteriol. 57: 213-220.
- Bligh, E.G. y Dyer, W.J. (1959). "A rapid method of total lipid extraction and purification". Can. J. Bioch. Physiol. 37:911-917.
- Blixt, Y. y Borch, E. "Comparison of shelf life of vacuum-packed pork and beef". (2002). Meat Science 60: 371-378.
- Bogdanov, S. (1984). "Characterisation of antibacterial substances in honey". Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 17: 74-76.
- Bogdanov, S. (1997). "Nature and origin of the antibacterial substances in honey". Lebensm.-Wiss. Uu.-Technol; 30: 748-753.
- Bogdanov, S. (2009). "Honey Composition". En: Book of Honey. Chapter 5. Bee product Science.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R. y Gallmann, P. (2008). "Honey for nutrition and health: a review". Am. J. Coll. Nutr. 27: 677-689.
- Borch, E., Kant-Muermans, M.L. y Blixt, Y. (1996). "Bacterial spoilage of meat and cured meat products". Int. J. of Food Microbiol. 33: 103-120.
- Borch, E. y Molin, G. (1988). "Numerical taxonomy of psychrotrophic lactic acid bacteria from prepacked meat and meat products". Antonie van Leeuwenhoek 54: 301-323.

- Borch, E. y Molin, G. (1989). "The aerobic growth and product formation of *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Brochotrix* and *Carnobacterium* in batch cultures". Appl. Microbiol. Biotechnol. 30: 81-88.
- Bosch, J. y Serra, J. (1986). "Evolución del contenido de hidroximetilfurfural en las mieles procesadas y situadas en el mercado español". Alimentaria, septiembre, 175: 59-61.
- Botsoglou, N.A., Christaki, E., Fletouris, D.J., Florou-Paneri, P. y Spais, A.B. (2002). "The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage". Meat Science 62: 259-265.
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J. y Trakatellis, A. G. (1994). "Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples". J. Agric. Food Chem. 42, 1931-1937.
- Buys, E. M., Nortjé, G. L., Jooste, P. J., & Von Holy, A. (2000). "Combined effect of modified atmosphere bulk packaging, dietary vitamine E supplementation and microbiological contamination on colour stability of *Musculus gluteus medius*". Meat Science, 55, 403-411.

### C

- Cabrera, L., Céspedes, E., Nava, R. y Ojeda de Rodríguez, G. (2006). "Actividad antibacteriana no-peróxido de mieles zulianas". Rev. Científ. FCV-LUZ. XVI(5): 556-563.
- Calkins, C.R. y Hodgen, J.M. (2007). "A fresh look at meat flavor". Meat Sci. 77: 63-80.
- Campo, M.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., Enser, M., Wood, J.D. y Richardson, R.I. (2006). "Flavor perception of oxidation in beef". Meat Science 72: 303-311.
- Caravaca Rodríguez, F.P., Castel Genís, J.M., Guzmán Guerrero, J.L., Delgado Pertíñez, M., Mena Guerrero, Y., Alcalde Aldea, M.J. y González Redondo, P. (2003). "Bases de la producción animal". Catálogo de publicaciones Universidad de Sevilla número 61.
- Carpenter, C.E., Cornforth, D.P. y Whittier, D. (2001). "Consumer preferences for beef colour and packaging did not affect eating satisfaction". Meat Sci. 57: 359-363.

- Cava, R., Ruíz, J., Ventanas, J. y Antequera, T. (1999). "Effect of  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation and the extensive feeding of pigs on the volatile aldehydes during the maturation of Iberian ham". Food Sci. Technol. Int. 5: 235-241.
- Cavanagh, D., Beazley, J. y Ostapowicz, F. (1970). "Radical operation for carcinoma of the vulva". Obstet, J. Gynaecol. Br. Commonw. 77: 1037-1040.
- Cayuela, J.M., Gil, M.D., Bañón, S. y Garrido, M.D. (2004). "Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the quality of pork loin". Eur. Food Res. Technol. 219: 316-320.
- Cervera Fantoni, A.L. (2003). "Envase y embalaje. La venta silenciosa". Editorial ESIC. 2ª Edición Revisada. Madrid.
- Chang, S.S., Matijasevic, B.O., Hsieh, O.L. y Huang, C.L. (1977). "Natural antioxidants from rosemary and sage". Journal of Food Science 42: 1102-1106.
- Chang, X., Wang, J., Yang, S., Chen, S. y Song, Y. (2011). "Antioxidant, antibrowning and antibacterial activities of sixteen floral honeys". Food and Function 2: 541-546.
- Chastain, M. Fhuffman, D.L., Hsieh, W. H. y Cordray, J.C. (1982). "Antioxidants in restructured beef/pork steaks". J. Food Sci. 47(6): 1779-1782.
- Cheah, P.B. y Abu Hasim, N.H. (2000). "Natural antioxidant extract from galangal (*Alpinia galanga*) for minced beef". J. Sci. Food Agric. 80: 1565-1571.
- Chen, L., Mehta, A., Berenbaum, M., Zangerl, A.R. y Engeseth, N.J. (2000). "Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates". J. Agric. Food Chem. 48: 4997-5000.
- Chen, C-C., Pearson, A.M., Gray, J.I. y Merkel, R.A. (1984). "Effects of salt and some antioxidants upon the TBA numbers of meat". Food Chem. 14(3): 167-172.
- Cheng, J.-H. y Ockerman, H.W. (2003). "Effect of phosphate with tumbling on lipid oxidation of precooked roast beef". Meat Science 65: 1353-1359.
- Cheng, J.-H., Wang, S.T. y Ockerman, H.W. (2007). "Lipid oxidation and color change of salted pork patties". Meat Science 75: 71-7.
- Cheftel, J.C., Cheftel, H. y Besançon, P. (1983). "Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos II". Ed. Acribia. Zaragoza.
- Cherbuliez, T. (2001). "The medicine from the bees". CD-ROM Apimondia.

- Cherbuliez, T. y Domerego, R. (2003). "L'apitherapie, Médecine des abeilles". Editions Amirys.
- Chiba, M., Idobata, K., Kobayashi, N., Sato, Y. y Muramatsu, Y. (1985). "Use of honey to ease the pain of stomatitis during radiotherapy". *Kangogaku Zasshi* 49: 171-176.
- Chirife, J., Zamora, M.C. y Motto, A. (2006). "The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys". *Journal of Food Engineering* 72: 287-292.
- Chow, J. (2002). "Probiotics and prebiotics: a brief overview". *J. Ren. Nutr.* 12: 76-86.
- Church, J. (1954). "Honey as a source of the anti-stiffness factor". *Fed. Proc. Am. Physiol. Soc.* 13: 26.
- Church, N. (1994). "Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies". *Trends in Food Science and Technology* 5: 345-352.
- Church, I.J. y Parsons, A.L. (1995). "Modified atmosphere packaging technology: a review". *Journal of the Science of Food Agriculture* 67: 143-152.
- Cogan, T.M. (1995). "Flavour production of dairy starter cultures". *J. Appl. Bacteriol.* 79:49S-64S.
- Cooper, R.A., Molan, P.C. y Harding, K.G. (2002). "The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds". *J. Appl. Microbiol.* 93: 857-863.
- Craig, J.A., Bowers, J.A., Wang, X.Y. y Seib, P.A. (1996). "Inhibition of lipid oxidation in meats by inorganic phosphate and ascorbate salts". *J. Food Sci.* 61(5): 1062-1066.
- Crane, E. (1975). "Honey a comprehensive survey". Heinemann, London.
- Croizet, F., Denoyer, C., Tran, N. y Berdagué, J.L. (1992). "Les composés volatils du saucisson sec. Évolution au cours de la maturation". *Viandes et Produits Carnés* 13(6): 167-170.
- Cuvelier, M. E., Richard, H. y Berset, C. (1996). "Antioxidative activity and phenolic compounds of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary". *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73: 645-652.



## D

- Da Costa-Leite, J.M., Trugo, L.C., Costa, L.S.M., Quinteiro, L.C.M., Barth, O.M., Dutra, V.M.L. y de María, C.A.B. (2000). "Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin". Food Chemistry 70: 93-98.
- Dainty, R.H., Edwards, R. y Hibbard, C.M. (1985). "Time course of volatile compound formation during refrigerated storage of naturally contaminated beef in air". J. Appl. Bacteriol. 59: 305-309.
- Dainty, R.H. y Hibbard, C.M. (1980). "Aerobic metabolism of *Brochothrix thermosphacta* growing on meat surfaces and laboratory media". J. Appl. Bacteriol. 48: 387-396.
- Dainty, R.H. y Mackey, B.M. (1992). "The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes". J. Appl. Bacteriol. 73: 103S-114S.
- Damez, J.L. y Clerjon, S. (2008). "Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. Review". Meat Science 80: 132-149.
- Daniels, J.A., Krishnamurthi, R. y Rizvi, S.S.H. (1985). "A review of effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality". J. Food Protect. 48(6): 532-537.
- D'Arcy, B.R. (2005). "Antioxidants in Australian floral honeys. Identification of health enhancing nutrient components". RIRDC Publication No 05/040.
- Darmadji, P. e Izumimoto, M. (1994). "Effect of quitosan in meat preservation". Meat Sci. 38(2): 243-254.
- Dawson, P.L. y Acton, J.C. (2000). "Honey in processed poultry meat". Summary of a research project funded by the National Honey Board (NHB) and conducted at Clemson University. Available from NHB ([www.nhb.org](http://www.nhb.org)).
- Dawson, P.L. y Mathew, S. (2000). "Antioxidative properties of honey in poultry meat". Summary of a research project funded by the National Honey Board (NHB) and conducted at Clemson University. Available from NHB ([www.nhb.org](http://www.nhb.org)).
- Decker, E.A. y Mei, L. (1996). "Antioxidant mechanisms and applications in muscle foods". En: Proc. 49<sup>th</sup> Reciprocal Meat Conference (pp. 64-72), 9-12 June, Provo, Utah, U. S.A.

- de Lorenzo, C., Guadalix, M., González, M. M. Navarro, T., Pérez, R. A., Sanz, M. L., Martínez-Castro, I., Pueyo, E., Polo, M. C., Soria, A. C. y Sanz, J. (2002). "La miel de Madrid". Madrid: Consejería de Economía e Innovación Tecnológica.
- Del Campo, J., Amiot, M.J. y Nguyen-The, C. (2000). "Antimicrobial effect of rosemary extracts". *Journal of Food Protection* 63(10): 1359-1368.
- Devlieghere, F., Debevere, J. y Van Impe, J. (1998). "Concentration of carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms". *Int. J. Food Microbiol.* 43: 105-113.
- Díaz-Chirón, M.T. (2004). "Características de la canal y de la carne de corderos lechales manchegos. Correlaciones y ecuaciones de predicción". Tesis. Universidad Complutense de Madrid (UCM).
- Díaz, M.T., Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Ruiz de Huidobro, F., Pérez, C., González, S. y Manzanares, C. (2002). "Use of concentrate or pasture for fattening lambs and its effect on carcass and meat quality". *Small Ruminant Research* 43: 257-268.
- Dimitrova B., Gevrenova, R. y Anklam, E. (2007). "Analysis of phenolic acids in honeys of different floral origin by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography". *Phytochem Anal.* 18: 24-32.
- Djenane, D., Sánchez-Escalante, A., Beltrán, J.A. y Roncalés, P. (2002). "Ability of  $\alpha$ -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere". *Food Chem.* 76(4): 407-415.
- Djenane, D., Sánchez-Escalante, A., Beltrán, J.A. y Roncalés, P. (2003). "Extension of the shelf life of beef steaks in a modified atmosphere by treatment with rosemary and displayed under UV-free lighting". *Meat Sci.* 64: 417-426.
- Dustmann, J.H. (1979). "Antibacterial effect of honey". *Apiacta* 14: 7-11.

## E

- Egan, A.F. (1983). "Lactic acid bacteria of meat and meat products". *Antonie van Leeuwenhoek*, 49: 327-336.
- Eilert, S.J. (2005). "New packaging technologies for the 21<sup>st</sup> century". *Meat Sci.* 71: 122-127.

- Elliott, J.G. (1999). "Application of antioxidant vitamins in foods and beverages". Food Technology 53(2): 46-48.
- English, H.K., Pack, A.R. y Molan, P.C. (2004). "The effects of manuka honey on plaque and gingivitis: a pilot study". J. Int. Acad. Periodontol. 6: 63-67.
- Erichsen, I. y Molin, G. (1981). "Microbiological flora of normal and high pH beef stored at 4 °C in different gas environments". J. Food Protect. 44: 866-869.
- Esmer, O.K., Irkin, R., Dergimencioglu, N. y Dergimencioglu, A. (2011). "The effect of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat". Meat Science 88: 221-226.
- Estévez, M. y Cava, R. (2004). "Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pate". Meat Sci. 68: 551-558.
- Estévez, M., Morcuende, D., Ventanas, S. y Cavas, R. (2003). "Analysis of volatiles in meat from iberian pigs and lean pigs after refrigeration and cooking by using SPME-GC-MS". J. Agric. Food Chem. 51: 3429-3435.
- Estevinho, L., Pereira, A.P., Moreira, L., Días, L.G. y Pereira, E. (2008). "Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal Honey". Food Chem. Toxicol. 46: 3774-3779.
- Estupiñán, S., Sanjuán, E., Millán, R. y González-Cortés, M.A. (1998). "Parámetros de calidad de la miel: I. Microbiología, caracteres físico-químicos y de envejecimiento: Revisión". Alimentaria, octubre, 296: 89-94.

## F

- Fahey J. W. y Stephenson, K.K. (2002). "Pinostrobin from honey and Thai ginger (*Boesenbergia pandurata*): A potent flavonoid inducer of mammalian phase 2 chemoprotective and antioxidant enzymes". J. Agric. Food Chem. 50: 7472-7476.
- Fang, S.W., Li, C.F. y Shih, D.Y.C. (1994). "Antifungal activity of chitosan and its preservative effect on low-sugar candied Kumquat". J. Food Protect. 57(2): 136-140.
- Farber, J.M. (1991). "Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology- A review". Journal of Food Protection 54(1): 58-70.
- FAO. (1996). "Honey". En: Value-added products from beekeeping (Krell, R.). Chapter 2. FAO Agricultural Services Bulletin n° 124. Rome, Italy: FAO.

- Faustman, C. y Cassens, R.G. (1990). "The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review". J. Muscle Foods 1: 217-243.
- Faustman, C., Cassens, R.G., Schaefer, D.M., Buege, D.R., Williams, S.N. y Scheller, K.K. (1989). "Improvement of pigment and lipid stability in Holstein steer beef by dietary supplementation with vitamin E". J. Food Sci. 54: 858-862.
- Faustman, C., Chan, W.K.M., Lynch, M.P. y Joo, S.T. (1996). "Strategies for increasing oxidative stability of (fresh) meat color". En: Proc. 49<sup>th</sup> Reciprocal Meat Conference (pp. 73-79), 9-12 June, Provo, Utah, U. S. A.
- Feás, X., Pires, J., Iglesias, A. y Estevinho, L. (2010). "Characterization of artysanal honey produced on the Norwest of Portugal by melyssopalinalogical and physico-chemical data". Food and Chemical Toxicology 48: 3462-3470.
- Ferioli, F., Caboni, M.F. y Dutta, P.C. (2008). "Evaluation of cholesterol and lipid oxidation in raw and cooked minced beef stored under oxygen-enriched atmosphere". Meat Science 80: 681-685.
- Fernández-López, J.; Sayas Barberá, M.E., Rosmini, M.R. y Pérez-Álvarez, J.A. (1997). "El test del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) como medida de la oxidación en carnes y productos cárnicos". Eurocarne, nº 58 Julio-Agosto.
- Fernández-López, J., Sevilla, L., Sayas-Barberá, M.E., Navarro, C., Marín, F. y Pérez-Álvarez, J.A. (2003). "Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in cooked pork meat". J. Food Sci. 68: 660-664.
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Álvarez, J.A. y Kuri, V. (2005). "Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs". Meat Sci. 69(3): 371-380.
- Fernández Uriel, P. (2011). "Dones del cielo. Abeja y miel en el Mediterráneo antiguo". Editorial Universidad Nacional de Ecuación a Distancia (UNED). 1ª Edición. Madrid.
- Ferreres, F., García-Viguera, C., Tomás-Lorente., F. y Tomás Barberán, F.A. (1993). "Hesperitin: A marker of the floral origin of citrus honey". J. Sci. Food Agric. 61: 121-123.
- Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I. y Tomás-Lorente, F. (1991). "An HPLC technique for flavonoid analysis in honey". J. Sci. Food Agric. 56: 49-56.
- Forss, D.A. (1972). "Progress in Chemistry: fats and other lipids" 12, 181.

- Frankel, E.N. (1993). "In search for better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids". *Trends Food Sci. Technol.* 4: 220-5.
- Frankel, E.N. (1998). "Lipid oxidation". Dundee, Scotland: The Oily Press Ltd.
- Frankel, E.N., Huang, S.W., Aeschbach, R. y Prior, E. (1996). "Antioxidant activity of rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion". *J. Agric. Food Chem.* 44: 131-135.
- Frankel, E.N., Neff, W.E. y Selke, E. (1984). "Analysis of autoxidized fats by gas chromatography-mass spectrometry. IX. Homolytic vs heterolytic cleavage of primary and secondary oxidation products". *Lipids* 19: 790-800.
- Frankel, S., Robinson, G.E. y Berembaum, M.R. (1998). "Antioxidant content and correlated characteristics of 14 monofloral honeys". *J. Apic. Res.* 37: 27-31.
- Friedrich, L., Siró, I., Dalmadi, I., Horváth, K., Ágoston, R. y Balla, Cs. (2008). "Influence of various preservatives on the quality of minced beef under modified atmosphere at chilled storage". *Meat Science* 79: 332-343.

## G

- Gallego, A.R., Gallardo, C.S., González, J.A. y Rodríguez, L.A. (2000). "Calidad microbiológica de la miel artesanal. Indicadores de contaminación no incluidos en la legislación". *Alimentaria* 310: 71-76.
- García, M., Pérez-Arquillue, C., Juan, T., Juan M.I. y Herrera, A. (2001). "Pollen analysis and antibacterial activity of Spanish honeys". *Food Sci. Technol. Int.* 7: 155-158.
- García de Fernando, G.D., Nychas, G.J.E., Peck, M.W. y Ordóñez, J.A. (1995). "Growth/ survival of psychrotrophic pathogens on meat packaged under modified atmospheres". *Int. J. Food Microbiol.* 28: 221-231.
- García-Esteban, M., Ansorena, D. y Astiasarán, I. (2004). "Comparison of modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period storage of dry-cured ham: effects on colour, texture and microbiological quality". *Meat Sci.* 67: 57-63.
- García-López, M.L., Prieto, M. y Otero, A. (1998). "The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products".

- En A. Davies & R.G. Board (Eds.), The microbiology of meat and poultry (pp. 1-34). London: Blackie Academic and Professional.
- García-Segovia, P., Andrés-Bello, A. y Martínez-Monzó, J. (2007). "Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (*M. Pectoralis*). Journal of Food Engineering 80: 813-821.
  - Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G. y Georgakis, S.A. (2007a). "Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C". Meat Science 76: 172-181.
  - Georgantelis, D., Blekas, G. Katikou, P., Ambrosiadis I. y Fletouris D.J. (2007b). "Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers". Meat Sci. 75: 256-264.
  - Gheldof, N. y Engeseth, N.J. (2002). "Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples". J. Agric. Food Chem. 50: 3050-3055.
  - Gheldof, N., Wang, X.H. y Engeseth, N.J. (2002). "Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources". J. Agric. Food Chem. 50: 5870-5877.
  - Gheldof, N., Wang, X.H. y Engeseth, N.J. (2003). "Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans". J. Agric. Food Chem. 51: 1500-1505.
  - Gil Hernández, Á. y Ruiz López, M.D. (2010). "Tratado de nutrición. Tomo II: Composición y calidad nutritiva de los alimentos". 2ª Edición. Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid.
  - Gil, M.I., Ferreres, F., Ortiz, A., Subra, E. y Tomás-Barberán, F.A. (1995). "Plant phenolic metabolites and floral origin of rosemary honey". J. Agric. Food Chem. 43: 2833-2838.
  - Gill, C.O. (1996). "Extending the storage life of raw chilled meats". Meat Sci. 43: S99-S109.
  - Gill, C.O. y Molin, G. (1991). Modified atmospheres and vacuum packaging. En N.J. Rusell and G.W. Gould (editors). Food Preservatives. Blackie. Glasgow, pp. 172-199.

- Gill, C.O. y Newton, K.G. (1977). "The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures". *J. Appl. Bacteriol.* 43: 189-195.
- Gill, C.O. y Tan, K.H. (1980). "Effect of carbon dioxide on growth of meat spoilage bacteria". *Applied and Environmental Microbiology* 39(2): 317-319.
- Glavind, J. (1963). "Antioxidants in animal tissue". *Acta Chem. Scand.* 17: 1635-1640.
- Glitsch, K. (2000). "Consumer perceptions of fresh meat quality: cross-national comparison". *British Food Journal* 102: 177-194.
- Gonnet, M., Aubert, S. y Ferry, P. (1990). "Evolution de la couleur du miel lors de sa cristallisation". *L'abeille de France*, 748, 174-181.
- Gonnet, M. y Vache, G. (1973). "El sabor de la miel". *Apimondia Bucarest*.
- González, M. y de Lorenzo, C. (2002). "Calidad sensorial de las mieles de Madrid: (I) Configuración de un grupo de cata y obtención de escalas normalizadas". *Alimentaria*, abril (331): 97-102.
- González Lorente, M., de Lorenzo Carretero, C. y Pérez Martín, R.A. (2008). "Sensory attributes and antioxidant capacity of spanish honeys". *J. Sensory Studies* 23: 239-302.
- González-Paramás, A.M. Gómez-Bárez, J.A., Cordon Marcos, C., García-Villanova, R.J. y Sánchez Sánchez, J. (2006). "HPLC-fluorimetric method for analysis of aminoacids in products of the hive (honey and bee-pollen)". *Food Chem.* 95: 148-156.
- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J.B., Christensen, A.B. y Givskov, M. (2002). "Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria". *Int. J. Food Microbiol.* 78: 79-97.
- Gray, J.I., Gomaa, E.A. y Buckley, D.J. (1996). "Oxidative quality and shelf life of meats". *Meat Sci.* 43(S): S111-S123.
- Gray, J.I. y Monahan, F.J. (1992). "Measurement of lipid oxidation in meat and meat products". *Trends Food Sci. Technol.* 3: 315-9.
- Gray, J.I. y Pearson, A.M. (1984). "Cured meat flavor". *Adv. Food Res.* 29: 1-86. C.O.
- Guidelines for meat color evaluation. (Published by the American Meat Science Association, (AMSA). Originally published in 1991. Proc. of the reciprocal meat conference. (Volume 44).

- Güntensperger, B., Hämmerli-Meier, D.E. y Escher F.E. (1998). "Rosemary extract and precooking effects on lipid oxidation in heat-sterilized meat". *J. Food Sci.* 63(6): 955-957.

## H

- Han, J. y Rhee, K.S. (2005). "Antioxidant properties of selected oriental non-culinary/nutraceutical herb extracts as evaluated in raw and cooked meat". *Meat Sci.* 70: 25-33.
- Hanson, S.W.F. y Olley, J. (1963). "Application of the Bligh and Dyer method of lipid extraction to tissue homogenates". *Biochem. J.* 89: 101-102.
- Hayes, J.E., Stepanyan, V., Allen, P., O'Grady, M.N. y Kerry, J.P. (2010). "Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf life stability of packaged new minced beef patties". *Meat Sci.* 84: 613-620.
- Hernández Rodríguez, M. y Sastre Gallego, A. (1999). "Tratado de nutrición". Ediciones Díaz de Santos S.A. Madrid.
- Higgins, F.M., Kerry, J.P., Buckley, D.J. y Morrissey, P.A. (1998). "Assessment of  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation, addition of salt and packaging on the oxidative stability of raw turkey meat". *Br. Poult. Sci.* 39: 596-600.
- Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O. y Kondo, K. (2001). "Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation". *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 47: 357-362.
- Ho, C.P., McMillin, K.W. y Huang, N.Y. (1996). "Ground beef lipid, color and microsomal stability in gas exchange modified atmosphere packaging". En IFT annual meeting proceeding 22-26 July (pp. 162), New Orleans, L. A., U. S. A.
- Holzapfel, W.H., Giesen, R. y Schillinger, U. (1995). "Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food grade enzymes". *International Journal of Food Microbiology* 24: 343-362.
- Houben, J.H., van Dijk, A., Eikelenboom, G. y Hoving-Bolink, A.H. (2000). "Effect of dietary vitamin E supplementation, fat level and packaging on colour stability and lipid oxidation in minced beef". *Meat Science*, 55: 331-336.
- Houlihan, C.M., Ho, C.T. y Chang, S.S. (1984). "Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, rosmaridiphenol isolated from rosemary". *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61: 1036-1038.



- Huidobro, J.F. y Simal, J. (1984). “Determinación del color y la turbidez en las mieles”. *Anal. Bromatol.* XXXVI(2): 225-245.

## I

- Igene, J.O., Yamauchi, K., Pearson, A.M. y Gray, J.I. (1985). “Mechanism by which nitrite inhibits the development of warmed-over flavour (WOF) in cured meat”. *Food Chem.* 35: 295-314.
- Iglesias, M.T., de Lorenzo, C., Polo, M.C., Martín- Álvarez, P.J. y Pueyo, E. (2004). “Usefulness of amino acids composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area”. *J. Agric. Food Chem.* 52: 84-89.
- Inoue, K., Murayama, S., Seshimo, F., Takeba, K., Yoshimura, Y. y Nakazawa, H. (2005). “Identification of phenolic compound in manuka honey as specific superoxide anion radical scavenger using electron spin resonance (ESR) and liquid chromatography with coulometric array detection”. *J. Sci. Food Agric.* 85: 872-878.
- Insausti, K., Beriain, M.J., Purroy, A., Alberti, P., Gorraiz, C. y Alzuela, M.J. (2001). “Shelf life of beef from local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere”. *Meat Science* 57: 273-281.
- Ioyrish, N. (1974). “Bees and people”. Russia : MIR Publishers, Moscow.
- Istrati, D. Constantin, O., Ionescu, A., Vizireanu, C. y Dinica, R. (2011). “Study of the combined effect of spices and marination on beef meat vacuum packaged”. *Food Technol.* 35(2):75-85.

## J

- Jackson, T.C., Acuff, G.R., Vanderzant, C., Sharp, T.R. y Savell, J.W. (1992). “Identification and evaluation of volatile compounds of vacuum and modified atmosphere packaged beef strip loins”. *Meat Science* 31: 175-190.
- Jakobsen, M. y Bertelsen, G. (2000). “Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition”. *Meat Science* 54: 49-57.

- Javanmard, M., Rokni, N., Bokaie, S. y Shahhosseini, G. (2006). "Effects of gamma irradiation and frozen storage on microbial, chemical and sensory quality of chicken meat in Iran". Food Control 17: 469-473.
- Jayasingh, P., Cornforth, D.P., Brennand, C.P., Carpenter, C.E. y Withier, D.R. (2002). "Sensory evaluation of ground beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging". Journal of Food Science 67: 3493-3496.
- Jayasingh, P., Cornforth, D.P., Carpenter, C.E. y Whittier, D. (2001). "Evaluation of carbon monoxide treatment in modified atmosphere packaging or vacuum packaging to increase color stability of fresh beef". Meat Sci. 59: 317-324.
- Jeánné, F. (1993). "Le miel. Eléments d'analyses". Bul. Tech. Apic. 84 : 167-170.
- Jensen, C., Guidera, J., Skovgaard, I. M., Staun, H., Skibsted, L. H., Jensen, S.K., Møller, A.J., Buckley, J. y Bertelsen, G. (1997). "Effects of dietary  $\alpha$ -tocopherol acetate supplementation on  $\alpha$ -tocopherol deposition in porcine *M. Psoas Major* and *M. Longissimus Dorsi* and on trip loss, colour stability and oxidative stability of pork meat". Meat Science 45: 491-500.
- Jiangning, G., Xinchu, W., Hou, W., Qinghua, L. y Kaishun, B. (2005). "Antioxidants from a Chinese medicinal herb-*Psoralea corylifolia* L.". Food Chemistry 91: 287-292.
- Jiménez Colmenero, F., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M.T., Cofrades, S. y Carballo, J. (2003). "Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts". Meat Science 65: 1291-1297.
- John, L., Cornforth, D., Carpenter, C.E., Sørheim, O., Pettee, B.C. y Whittier, D.R. (2004). "Comparisons of color and thiobarbituric acid values of cooked hamburger patties after storage of fresh beef chubs in modified atmospheres". J. Food Sci. 69(8): C608-C614.
- John, L., Cornforth, D., Carpenter, C.E., Sørheim, O., Pettee, B.C. y Whittier, D.R. (2005). "Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, or 0.4% carbon monoxide, or vacuum". Meat Science 69: 441-449.

- Johnston, J.E., Sepe, H.A., Miano, C.L., Brannan, R.G. y Alderton, A.L. (2005). "Honeys inhibit lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties". *Meat Sci.* 70: 627-631.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S. y Bauer, F. (2006). "Antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork". *Meat Sci.* 72: 446-456.

## K

- Kandler, O. (1983). "Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria". *Antonie van Leeuwenhoek*, 49: 209-224.
- Kanner, J. (1994). "Oxidative processes in meat and meat products: quality implications". *Meat Science* 36: 169-189.
- Kanner, J., German, J.B. y Kinsella, J.E. (1987). "Initiation of lipid peroxidation in biological systems". *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* 25: 317-64.
- Kefalas, P., Gotsiou, P. y Chougoui, N. (2001). "Contribution to the identification of Greek honey". *International Honey Commission. Athens Meeting.*
- Kerry, J.P., O'Grady, M.N. y Hogan, S.A. (2006). "Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review". *Meat Science* 74: 113-130.
- King, A.J. y Earl, L.A. (1988). "Effect of selected sodium and potassium salts on TBA values of dark meat turkey patties". *J. Food Sci.* 53: 723-6.
- King, N.J. (Turner, N.) y Whyte, R. (2006). "Does it look cooked? A review of factors that influence cooked meat color". *J. Food Sci.* 71(4): R31-R40.
- Knipe, L. (1993). *Basic Science. Cured Meat Short Course.* Iowa State University. April 27.
- Kropf, D.H. (1980). "Effects of retail display conditions on meat colour". *Proc. of the Reciprocal Meat Conference* 33: 15.
- Kurechi, T., Kikugawa, K. y Ozawa, M. (1980). "Effect of malondialdehyde on nitrosamine formation". *Food Cosmet. Toxicol.* 18(2): 119-122.
- Küçük, M., Kolayh, S., Karaoglu, S., Ulusoy, E., Baltacı, C. y Candan, F. (2007). "Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia". *Food Chemistry* 100: 526-534.

**L**

- Labadie, J. (1999). "Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche". *Meat Science* 52(1): 299-305.
- Lachman, J., Orsák, M., Hejtmánková, A. y Korářová, E. (2010). "Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys". *LWT, Food Sci. Technol.* 43: 52-58.
- Ladikos, D. y Lougovois, V. (1990). "Lipid oxidation in muscle foods: a review". *Food Chem.* 35: 295-314.
- Lagerstedt, A., Edblad, U., Wrestström, S., Enfält, L., Johansson, L., y Lundström, K. (2007). "Minced meat packed in high-oxygen modified atmosphere-effects on sensory quality and oxidation products". En *Proc. 53<sup>rd</sup> International Congress of Meat Science and Technology (53<sup>rd</sup> ICoMST)* (pp. 515-516), 5-10 August, Beijing, China.
- Lai, S.M., Gray, J.I., Smith, D.M., Booren, A.M., Crackel, R.L. y Buckley, D.J. (1991). "Effects of oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone, and sodium tripolyphosphate on the development of oxidative rancidity in restructured chicken nuggets". *Journal of Food Science* 56: 616-620.
- Lambert, A.D., Smith, J.P. y Doods, K.L. (1991). "Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat: a review". *Food Microbiology* 8: 267-297.
- Lanari, M.C., Schaefer, D.M. y Scheller, K.K. (1995). "Dietary vitamin E supplementation and discoloration of pork bone and muscle following modified atmosphere packaging". *Meat Sci.* 41: 237-250.
- Lecanu, L., Ducruet, V., Jouquand, C., Gratadoux, J.J. y Feigenbaum, A. (2002). "Optimization of headspace solid-phase microextraction (SPME) for the odor analysis of surface-ripened cheese". *J. Agric. Food Chem.* 50: 3810-3817.
- Leroy, F., Vasilopoulos, C., Van Hemelryck, S., Falony, G. y de Vuyst, L. (2009). "Volatile analysis of spoiled, artisan type, modified-atmosphere-packaged cooked ham stored under different temperatures". *Food Microbiol.* 26: 94-102.
- Liu, Q., Lanari, M.C. y Schaefer, D.M. (1995). "A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality". *J. Anim. Sci.* 73: 3131-3140.

- López-Lorenzo, P., Hernández, P., Sans-Pérez B. y Ordóñez, J.A. (1980). "Effect of oxygen- and carbon dioxide-enriched atmospheres on shelf-life extension of refrigerated pround pork". Meat Science 4: 89-94.
- López-Vázquez, R. y Casp Vanaclocha, A. (2004). "Tecnología de mataderos". Colección Tecnología de los Alimentos. Ediciones Mundi-Prensa.
- Louveaux, J. (1985). "Le miel". Cah. Nutr. Dite. XX(1): 55-70.
- Love, J.D. (1983). "The role of heme iron in the oxidation of lipids in red meats". Food Technol. 37(7): 117-129.
- Love, J. (1988). "Sensory analysis of warmed-over flavor in meat". Food Technol. 42(6): 140-143.
- Luño, M., Roncalés, P., Djenane, D. y Beltrán, J.A. (2000). "Beef shelf life in low O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub> atmospheres containing different CO concentrations". Meat Sci. 55: 413-419.

## M

- MacLeod, G. (1994). "The flavor of beef". En F. Shaidi (Ed.), Flavor of meat and meat products (pp. 4-37). Glasgow, UK: Blackie Academic and Professional.
- Madhavi, D.L., Singhal, R.S. y Kulkarni, P.R. (1995). "Technological aspects of food antioxidants". En: D.L. Madhavi, & D.K. Deshpande Ssand Salunkhe (Eds.), Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives, 270 Madison Avenue, New York 10016, USA: Marcel Dekker, Inc.
- Mancini, R.A. y Hunt, M.C. (2005). "Current research in meat color. Review". Meat Science 71: 100-121.
- Mano, S.B., Pereda, J.A.O. y Fernando, G.D.G. (2002). "Aumento da vida útil e microbiologia da carne suína embalada em atmosfera modificada". Ciência et Technologie Alimentaires 22: 1-10.
- Marini, F., Magrì, A.L., Balestrieri, F., Fabretti, F. y Marini, D. (2004). "Supervised pattern recognition applied to the discrimination of the floral origin of six types of Italian honey samples". Analytica Chimica Acta 515: 117-125.
- Marshall, D.L., Wiese-Lehigh, P.L., Wells, J.H. y Farr, A.J. (1991). "Comparative growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on precooked chicken nuggets stored under modified atmospheres". J. Food Protect. 54(11): 841-843, 851.

- Martín, R.A. P., Hortigüela, L. V., Lozano, P. L., Cortina, M.D. R. y Carretero, C. L. (2008). "In vitro antioxidant and antimicrobial activities of spanish honeys". *Int. J. Food Prop.* 11(4):727-737.
- Martínez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltrán, J.A. y Roncalés, P. (2006). "Effect of varying oxygen concentrations on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere". *Food Chemistry* 94: 219-225.
- Martínez de Flores Escobar, G., González-Garza Ducoing, M., Covadonga Torre, M. (2004). "Iniciación en las técnicas culinarias". 2ª Edición. Editorial Limusa de CV Grupo Noriega Editores. México.
- Martos, I., Ferreres, F., Yao, L., D'Arcy, B., Caffin, N. y Tomás-Barberán, F.A. (2000). "Flavonoids in monospecific Eucalyptus honeys from Australia". *J. Agric. Food Chem.* 48: 4744-4748.
- Mateo, R. y Bosch-Reig. (1997). "Sugar profiles of Spanish unifloral honeys". *Food Chemistry* 60:33-41.
- Mato, I., Huidobro, J., Sánchez, M., Simal-Lozano, J. y Sancho, M. (2000). "Calculation of different citric acids forms in honey and their relationships with the honey pH". *Deutsche Lebensm.* 96: 177-180.
- McCarthy, T.L., Kerry, J.P., Kerry, J.F., Lynch, P.B. y Buckley, D.J. (2001a). "Evaluation of the antioxidant potential of natural food plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamine E in raw and cooked pork patties". *Meat Sci.* 57: 45-52.
- McCarthy, T.L., Kerry, J.P., Kerry, J.F., Lynch, P.B. y Buckley, D.J. (2001b). "Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties". *Meat Science* 57: 177-184.
- McKibben, J. y Engeseth, N.J. (2002). "Honey as a protective agent against lipid oxidation in ground turkey". *J. Agric. Food Chem.* 50: 592-595.
- McMillin, K.W. (1993). "Dynamic gas exchange of modified atmosphere packaging of fresh meat". Conference proceedings. Pack Alimentaire, Session C-1, Chicago.
- McMillin, K.W. (2008). "Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat". *Meat Science* 80: 43-65.
- McMillin, K.W., Huanh, N.Y., Ho, C.P. y Smith, B.S. (1999). "Quality and shelf-life of meat in case-ready modified atmosphere packaging". En Y.L. Xiong,

- F. Shahidi, & C.T. Ho (Eds.), *Quality attributes in muscle foods* (pp. 73-93). New York: ACS Symposium Series, Plenum Publishing Corporation.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. y Nacoulma, O.G. (2005). "Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity". *Food Chem.* 91: 571-577.
  - Mendizábal, F.M. (2005). "Abejas". 1ª Edición. Editorial ALBATROS SACI. Buenos Aires.
  - Michalkiewicz, A., Biesaga, M. y Pyrzynska, K. (2008). "Solid-phase extraction procedure for determination of phenolic acids and some flavonols in honey". *J. Chrom. A.* 1187: 18-24.
  - Mielnik, M.B., Aaby, K. y Skrede, G. (2003). "Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat". *Meat Sci.* 65: 1147-1155.
  - Mitsumoto, M., O'Grady, M.N., Kerry, J.P. y Buckley, D.J. (2005). "Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties". *Meat Sci.* 69: 773-779.
  - Mohrig, W. y Messner, R. (1968). "Lysozym als antibacterielles agens im honig und bienengift". *Acta Biologica Medica Germanica* 21: 85-95.
  - Mol, J.H.H., Hietbrink, E.A., Mollen, H.W.M. y van Tinteren, J. (1971). "Observations on the microflora of vacuum packed sliced cooked meat products". *J. Appl. Bacteriol.* 34: 377-397.
  - Molan, P. (1992). "The antimicrobial activity of honey". *Bee World*, 73, 5-28, 59-76.
  - Molan, P.C. (1992a). "The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity". *Bee World* 73(1): 5-28.
  - Molan, P.C. (1992b). "The antibacterial activity of honey: 2. Variation in the potency of the antibacterial activity". *Bee World* 73(2): 59-76.
  - Molan, P.C. (1998). "A brief review of the use of honey as a clinical dressing". *Prim. Intent.* 6: 148-158.
  - Molan, P.C. (2001). "Why honey is effective as a medicine. 2. The scientific explanation of its effects". *Bee World* 82: 22-40.

- Molan, P.C. y Betts, J.A. (2004). "Clinical usage of honey as a wound dressing: un update". *J. Wound Care* 13: 353-356.
- Molan, P.C. y Russell, K.M. (1988). "Non-peroxide activity in some New Zealand honeys". *J. Apic. Res.* 27 (1) 62-67.
- Montero Morales, C. (2003). *Alimentación y vida saludable ¿Somos lo que comemos?* Universidad Pontificia Comillas de Madrid.
- Moolenaar M., Poorter, R.L., Van der Toorn, P.P., Lenderink, A.W., Poortmans, P. y Egberts, A.C. (2006). "The effect of honey compared to conventional treatment on healing of radiotherapy-induced skin toxicity in breast cancer patients". *Acta Oncologica* 45: 623-624.
- Moreno, B. "Higiene e inspección de carnes-I". (2006). Ediciones Díaz de Santos. Madrid.
- Morrissey, P.A., Kerry, J.P. y Galvin, K. (1998). "Lipid oxidation in muscle foods". En: *Freshness and shelf life of foods*. Cadwallade K.R., Weenen, H. (eds). Am. Chem. Soc. Washington D.C. P. 188-200.
- Mothershaw, A.S. y Jaffer, T. (2004). "Antimicrobial activity of Foods with different physio-chemical characteristics". *Int. J. Food Prop.* 7(3): 629-638.
- Mundo, M.A., Padilla-Zakour, O.I. y Worobo, R.W. (2004). "Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys". *Int. J. Food Microbiol.* 97: 1-8.
- Muriel, E., Antequera, T., Petró, M.J., Andrés, A.I. y Ruiz, J. (2004). "Volatile compounds in Iberian dry-cured loin". *Meat Science* 68: 391-400.

## N

- Nagai, T., Inoue, R., Kanamori, N., Suzuki, N. y Nagashima, T. (2006). "Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat". *Food Chem.* 97(2): 256-262.
- Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H. y Suzuki, N. (2001). "Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis". *Food Chemistry* 75: 237-240.
- National Honey Board (NHB). (1996). "Honey information kit of the food and beverage industries". Longmont, CO: National Honey Board.
- National Honey Board (NHB). (2003). "Honey-health and therapeutic qualities". 390 Lashley Street Longmont, [www.nhb.org](http://www.nhb.org).



- Naveena, B.M., Sen, A.R., Muthukumar, M., Babji, Y. y Kondaiah, N. (2011). "Effects of salt and ammonium hydroxide on the quality of ground buffalo meat". *Meat Sci.* 87: 315-320.
- Naveena, B.M., Sen, A.R., Vaithyanathan, S., Muthukumar, M. y Babji, Y. (2007). "Effect of honey and vitamine C on quality of microwave cooked chicken patties". *J. Food Sci. Technol.* 44(5): 505-508.
- Ninfali, P. y Bacchiocca, M. (2003). "Polyphenols and antioxidant capacity of vegetables under fresh and frozen conditions". *J. Agric. Food Chem.* 51: 2222-2226.
- Nissen, L.R., Byrne, D.V., Bertelsen, G. y Skibsted, L.H. (2004). "The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis". *Meat Science*, 68: 485-95.
- Novelli, E., Gandemer, G., Myener, A., Zanardi, E. y Chizzolini, R. (1995). "Composizione dell'aroma di due prodotti di salumeria: mortadella e salame milano". *Atti del congresso Grassi e qualità delle carni. Parma* pp. 133-153.
- Nozal Nalda, M.J., Bernal Yagüe, J.L., Diego Calva, J.C. y Martín Gómez, M.T. (2005). "Classifying honeys from the Soria Province of Spain via multiariate analysis". *Anal. Bioanal Chem* 382: 311-319.

## O

- Obaeiseki-Ebor, E., Afonoya, T. y Onyekweli, A. (1983). "Preliminary report on the antimicrobial activity of honey destillate". *J. Pharm. Pharmacol.* 35: 748-749.
- Olesen, P.T., Meyer, A.S. y Stahnke, L.H. (2004). "Generation of flavor compounds in fermented sausages-the influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time". *Meat Science* 66: 675-687.
- Ordóñez, J.A., De Pablo, B., Pérez de Castro, B., Asensio, M.A. y Sanz B. (1991). "Selected chemical and microbiological changes in refrigerated pork stored in carbon dioxide and oxygen enriched atmospheres". *J. Agric. Food Chem.* 39: 668-672.
- Ordóñez, J.A. y Ledward, D.A. (1977). "Lipid and myoglobin oxidation in pork stored in oxygen- and carbon dioxide-enriched atmospheres". *Meat Sci.* 1: 41-48.
- Orrego, A., C.E. (2002). "Microestructura y nanoestructura de alimentos". *Rev. Colombiana de Física* 34 (1).

- Osato, M.S., Reddy, S.G. y Gkham, D.Y. (1999). "Osmotic effect of honey on growth and viability of *Helicobacter pilory*". Dig. Dis. Sci. 44: 462-64.

**P**

- Palka, K. (1999). "Changes in intramuscular connective tissue and collagen solubility of bovine M. *semitendinosus* during retorting". Meat Sci. 53: 189-194.
- Palka, K. y Duan, H. (1999). "Changes in texture, cooking losses and myofibrillar structure of bovine M. *semitendinosus* during heating". Meat Science 51: 273-293.
- Papadima, S.N., Arvanitoyannis, I., Bloukas, J.G. y Fournitzis, G.C. (1999). "Chemometric model for describing Greek traditional sausages". Meat Sci. 51(3): 271-277.
- Pardo García, A. (2005). "Descubra el poder de la miel". 1ª Edición. Colección Natural. Grupo Imaginador de Ediciones. Editorial Albatros. Buenos Aires.
- Pascual Anderson, M.R. y Calderón y Pascual, V. (2000). "Microbiología Alimentaria: Metodología analítica para alimentos y bebidas". 2ª Edición. Díaz de Santos. Madrid.
- Patzold, R. y Bruckner, H. (2006). "Gas chromatography detection of D-amino-acids in natural and thermally treated bee honeys and studies on the mechanism of their formation as result of the Maillard reaction". Eur. Food Res. Technol. 223: 347-354.
- Pawliszyn, J., Pawliszyn, B. y Pawliszyn, M. (1997). "Solid Phase Microextraction (SPME)". The Chemical Educator Vol. 2 Issue 4. Springer-Verlag New York, Inc. pp. 1-7.
- Pawliszyn, J. (2002). "Solid phase microextraction". En: Issaq (Ed.), A century of separation science (pp. 399-419). New York: Marcel Dekker Inc.
- Pearson, A.M., Love, J.D. y Shorland, F.B. (1977). "Warmed-over flavour in meat, poultry and fish". Advances in Food Research 23: 1-74.
- Pérez, R.A. (2002). "Analysis of volatiles from Spanish honeys by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. J. Agric. Food Chem. 50: 2633-2637.
- Pérez, R.A., Iglesias, M.T., Pueyo, E., González, M. y de Lorenzo, C. (2007). "Aminoacid Composition and Antioxidant Capacity of Spanish Honeys". J. Agric. Food Chem. 55: 360-365.

- Pérez, R.A., Rojo, M.D., González, G. y de Lorenzo, C. (2008). “Solid-phase microextraction for the determination of volatile compounds in the spoilage of raw ground beef”. J. AOAC Int. 91: 1409-1415.
- Pérez-Munuera, I., Larrea, V., Quiles, H. y Lluch, M.A. (2009). “Microstructure of muscle foods”. En: Handbook of Muscle Foods Analysis Chapter 19, pp. 335-352. Edited by Leo M.L., Nollet and Fidel Toldrá. Taylor & Francis Group.
- Persano, Oddo, L., Piana, L. y Sabatini, G. (1995). Conoceré il miele. Guida all’analisi sensoriale. Avenue Media.
- Piñero C., M.P., Ferrer M., M.A., Arenas de Moreno, L., Huerta-Leidenz, N., Parra Q., K.C. y Araujo de R., S. (2005). “Atributos sensoriales y químicos de un producto cárnico ligero formulado con fibra soluble de avena”. Rev. Científ. FCV-LUZ. XV(3): 279-285.
- Pradhan, A.A., Rhee, K. y Hernández, S.P. (2000). “Stability of catalase and its potencial role in lipid oxidation in meat”. Meat Science 54: 385-390.
- Presidencia del Gobierno (1986). *Orden de 12 de Junio de 1986 por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis para la miel*. BOE nº 145, 18/06/1986.
- Presidencia del Gobierno (1983). *Orden de 5 de Agosto de 1983 por la que se aprueba la norma de calidad para la miel destinada al mercado interior*. BOE nº 193, 13/08/1983.
- Presidencia del Gobierno (1986). *Orden de 14 de Agosto de 1986 por la que se aprueba la norma de calidad para carnes picadas de vacuno, ovino y porcino destinadas al mercado interior*. BOE nº 18, 21/01/1986.
- Presidencia del Gobierno (2000). *Real Decreto 3484 de 29 de Diciembre por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas*. BOE nº 11, 12/01/2001.
- Presidencia del Gobierno (2010). *Real Decreto de 135/2010 de 12 de Febrero por el que se derogan disposiciones relativas a los criterios microbiológicos de los productos alimenticios*. BOE nº 49, 25/02/2010.
- Presidencia del Gobierno (2003). *Real Decreto 1049/2003, de 1 de agosto, por el que se aprueba la Norma de calidad relativa a la miel*. BOE nº 186, 5/08/2003.

## Q

- Quilo S.A., Pohlman, F.W., Brown A.H., Crandall, P.G., Días-Morse, P.N., Buablits R.T. y Aparicio, J.L. (2009). "Effects of potassium lactate, sodium metasilicate, peroxyacetic acid, and acidified sodium chloride on physical, chemical and sensory properties of ground beef patties". *Meat Science* 82: 44-52.

## R

- Radwan, S.S., El-Essawy, A.A. y Sarhan, M.M. (1984). "Experimental evidence for the occurrence in honey of specific substances active against micro-organisms". *Zentralblatt für Microbiologie* 139: 249-255.
- Raharjo, S. y Sofos, J.N. (1993). "Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review". *Meat. Sci.* 35: 145-169.
- Ramarathnam, N. y Rubin, L.J. (1994). "The flavour of cured meat". En: F. Shahidi (Ed.), *Flavor of meat and meat products* (pp. 174-198). London: Blackie Academic Professional.
- Ranken, M.D. (2003). "Manual de industrias de la carne". 1ª Edición. AMV Ediciones. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Reglamento (CE) nº 2073/2005, de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea* (22.12.2005, L338/1-L338/25).
- Renerre, M. y Labadie, J. (1993). "Fresh red meat packaging and meat quality". En *Proc. 39<sup>th</sup> ICoMST* (pp. 361-387), 1-6 August, Calgary, Canada.
- Rentschler, H. y Tanner, H. (1976). "Anleitung für die Getränke Analyse". *Forschungsanstalt Eidg: Wädensweil* p.89.
- Resurrección, A.V.A. y Reynolds, A.E. (1990). "Evaluation of natural antioxidants in frankfurters containing chicken and pork". *J. Food Sci.* 55: 629-631.
- Rhee, K.I. y Ziprin, Y.A. (1987). "Lipid oxidation in retail beef, pork and chicken muscles as affected by concentrations of heme pigments and non-heme iron and microsomal enzymic lipid peroxidation activity". *J. Food Biochem.* 11: 1-15.

- Robbins, K., Jensen, J., Ryan, K.J., Homco, Ryan, C., McKeith, F.K. y Brewer, M.S. (2003a). "Effects of dietary vitamin E supplementation on textual and aroma attributes of enhanced beef clod roasts in a cook/ hot-hold situation". *Meat Science* 65: 317-322.
- Robbins, K., Jensen, J., Ryan, K.J., Homco-Ryan, C., McKeith, F.K. y Brewer, M.S. (2003b). "Consumer attitudes towards beef and acceptability of enhanced beef". *Meat Sci.* 65: 721-729.
- Rodríguez-Calleja, J.M., García-López, M.L., Santos, J.A. y Otero, A. (2005). "Development of the aerobic spoilage flora of chilled rabbit meat". *Meat Sci.* 70: 389-394.
- Rodríguez Rivera, V.M. y Simón Magro, E. (2008). "Bases de la alimentación humana". Edición NETBIBLO S.L. La Coruña.
- Rojas, C. y Brewer, M.S. (2007). "Effect of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork". *J. Food Sci.* 72(4): S282-S288.
- Roller, S. y Covill, N. (2000). "The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise-based shrimp salads". *J. Food Protect.* 63(2): 202-209.
- Roller, S., Sagoo, S., Board, S., O'Mahony, T., Caplice, E., Fitzgerald, G., Fodgen, M., Owen, M. y Fletcher, H. (2002). "Novel combinations of chitosan, carnocin and sulphite for the preservation of chilled pork sausages". *Meat Science* 62(2): 165-177.
- Ross, C.F. y Smith, D.M. (2006). "Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods". *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety* 5: 18-25.
- Roth, L., Kwan, S. y Sporns, P. (1986). "Use of a disc assay to detect oxytetracycline residues of honey". *J. Food Prot.* 49: 436-444.
- Roth, L., Kwan, S. y Sporns, P. (1986). "Use of a disc assay to detect oxytetracycline residues of honey". *J. Food Prot.* 49: 436-444.
- Ruiz-Argüeso, T. y Rodríguez-Navarro, A. (1975). "Microbiology of ripening honey". *Appl. Microbiol.* 30: 893-896.
- Russel, K., Molan, P., Wilkins, A. y Holland, P. (1988). "Identification of some antibacterial constituents of New Zealand manuka honey". *J. Agric. Food Chem.* 38: 10-13.

S

- Salas-Salvadó, J., García-Lorda, P. y Sánchez Ripollés, J.M. (2005). “La alimentación y la nutrición a través de la historia”. Editorial Glosa. Barcelona.
- Samelis, J., Kakouri, A. y Rementzis, J. (2000). “Selective effect of the product type and packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4 °C”. *Food Microbiol.* 17: 329-340.
- Sampaio, G. R., Saldanha, T., Soares, R.A.M. y Torres, E.A.F.S. (2012). “Effect of the natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage”. *Food Chemistry* 135: 1383-1390.
- Sancho, J., Bota, E. y de Castro, J.J. (1999). “Introducción al análisis sensorial de los alimentos”. (Estudi general: 4). 1ª Edición. Edicions Universitat de Barcelona.
- Sánchez-Escalante, A., Djenane, D., Torrecano, G., Beltrán, J.A., Roncalés, P. (2003). “Antioxidant action of borage, rosemary, oregano and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere”. *J. Food Sci.* 68(1): 239-344.
- Sanz Cervera, S. y Sanz Cervera, M.M. (1994). “Valores de acidez (libre, láctónica y total) y pH de las mieles de La Rioja”. *Zubía*, 12: 193-204. ([Dialnet-ValoresDeAcidezLibreLactonicaYTotalYPHDeLasMielesD-110291.pdf](#)).
- Sato, K. y Hegarty, G.R. (1971). “Warmed-over flavor in cooked meats”. *J. Food Sci.* 36: 1098-1102.
- Seydim, A.C., Guzel-Seydim, Z.B., Acton, J.C. y Dawson P.L. (2006). “Effects of rosemary extract and sodium lactate on quality of vacuum-packaged ground ostrich meat”. *Journal of Food Science* 71: S71-S76.
- Serra, J. y Gómez, A. (1984). “Détermination de la falsification possible du miel avec des produit sucrants”. *Bull. Techn. Apic.* 11(4): 195-202.
- Shahidi, F. (1992). “Prevention of lipid oxidation in muscle foods by nitrite and nitrite-free compositions”. Pages 161-182. En: *Lipid Oxidation in Food*. A.J. St. Angelo, ed. Am. Chem. Soc., Washington, D. C.
- Shahidi, F. (1994). “Assessment of lipid oxidation and off-flavor development in meat and meat products”. En: F. Shahidi (Ed.). *Flavor of meat and meat products* (pp. 53). London, UK: Blackie Academic & Professional.

- Shahidi, F. (1998). "Flavor of meat, meat products and seafoods". F. Shahidi Edition. Blackie Academic and Professional: London.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V. y Jeon, Y.-J. (1999). "Food applications of chitin and chitosans". Trends in Food Science and Technology 10(2): 37-51.
- Shahidi, F. y Pegg, R.B. (1994b). "Hexanal as an indicator of the flavor deterioration of meat and meat products". En: C.T. Ho, & T.G. Hartman (Eds.), Lipids in food flavors (pp. 256-279). Washington, D. C: American Chemical Society.
- Shahidi, F., Rubin, L.J. y Wood, D.F. (1987). "Control of lipid oxidation in cooked ground pork with antioxidants and dinitrosyl ferrohemochrome". J. Food Sci. 52: 564-567.
- Shahidi, F. y Wanasundara, P.K.J.P.D. (1992). "Phenolic antioxidants". Critical Reviews in Food Science and Nutrition 32(1): 67-103.
- Shin, H.-S. y Ustunol, Z. (1995). "Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected intestinal bacteria: An in vitro comparison". Food Research International 38: 721-728.
- Simon, A., Sofka, K., Wiszniewsky, G., Blaser, G., Bode, U. Y Fleischhack, G. (2006). "Wound care with antibacterial honey (Medihoney) in pediatric hematology-oncology". Supportive Care in Cancer 14: 91-97.
- Simpson, B.K., Gagne, N., Ashie, I. N.A. y Noroozi, E. (1997). "Utilization of chitosan for preservation of raw shrimp (*Pandalus boreallis*)". Food Biotechnology 11(1): 25-44.
- Skibsted, L.H., Mikkelsen, A. y Bertelsen, G. (1998). "Lipid-derived off-flavours in meat". En: F. Shahidi, Flavour of meat, meat products and seafoods (2<sup>nd</sup> ed., pp. 217-248). London: Blackie Academic & Professional, (Chapter 10).
- Smirnova, I.I., Filatova, E.I., Suvorov, A.N. y Bylinskaia, E.N. (2006). "The use of therapeutic/prophylactic dragee "honey laminolact" in radiotherapy of uterine tumors". Voprosi Onkologii 46: 748-750.
- Smit, G., Smit, B.A., y Engels, W.J.M. (2005). "Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavor profiling of cheese products". FEMS Microbiol. Rev. 29: 591-610.

- Smith, J.S. y Alfawaz, M. (1995). "Antioxidative activity of Maillard Reaction Products in cooked ground beef, sensory and TBA values". J. Food Sci. 60(2): 234-236.
- Smith, J.P., Ramaswamy, H.S. y Simpson, B.K. (1990). "Developments in food packaging technology. Part II. Storage aspects". Trends Food Sci. Technol. 1(5): 111-118.
- Socha, R. Juszczak, L., Pietryk, S., Galkowska, D., Fortuna, T. y Witczak, T. (2011). "Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys". Int. J. Food Sci. Technol. (46):528-534.
- Soria, A.C., González, M., de Lorenzo, C., Martínez Castro, I. y Sanz, J. (2005). "Estimation of the honeydew ratio in honey samples from their physicochemical data and from their volatile composition obtained by SPME and GC-MS". J. Sci. Food Agric. 85: 817-824.
- Sørheim, O., Nissen, H. y Nesbakken, T. (1999). "The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide". Meat Science 52: 157-164.
- Spanier, A.M. (1992). "Current approaches to the study of meat flavor quality". Developments in Food Science 29: 695-709.
- St. Angelo, A.J. (1996). "Lipid oxidation in Foods". CRC Critical Review of Food Science and Nutrition, 36: 175-224.
- St. Angelo, A.J., Crippen, K.L., Dupuy, H.P. y James, C.Jr. (1990). "Chemical and sensory studies of antioxidant-treated beef". J. Food Sci. 55(6): 1501-1539.
- St. Angelo, A.J., Vercellotti, J.R., Dupuy, H.P. y Spanier, A.M. (1988). "Assessment of beef flavor quality: a multidisciplinary approach". Food Technol. 42(6): 133-8.
- St. Angelo, A.J., Vercellotti, J. R., Legendre, M.G., Vinnet, C. H., Kuan, J. W. y James, C.Jr. y Dupuy, H.P. (1987). "Chemical and instrumental analyses of warmed-over flavor in beef". Journal of Food Science 52: 1163-1168.
- Stahnke, L.H. (1995b). "Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels. Part III. Sensory evaluation". Meat Science 41(2): 211-213.



- Stahnke, L.H. (1998). "Character impact aroma compounds in fermented sausage". En: Proc. of the 44<sup>th</sup> Int. Cong. Food Sci. Technol., Barcelona, pp. 786-787.
- Stetzer, A.J., Cadwallader, K., Singh, T.K., McKeith, F.K. y Brewer, M.S. (2008). "Effect of enhancement and ageing on flavor and volatile compounds in various beef muscles". *Meat Science* 79: 13-19.
- Stiles, M.E. (1996). "Biopreservation by lactic acid bacteria". *Antony Van Leeuwenhoek*, 70: 331-345.
- Storz, G. e Imaly, J.A. (1999). "Oxidative stress". *Current Opinion in Microbiology* 2: 188-194.
- Subrahmaniam, M. (1998). "A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine". *Burns* 24: 157-161.
- Subrahmaniam, M. (1991). "Topical application of honey treatment of burns". *British J. Surg.* 78: 497-498.
- Sudarshan, N.R., Hoover, D.G. y Knorr, D. (1992). "Antibacterial action of chitosan". *Food Biotechnology* 6(3): 257-272.
- Suman, S.P., Mancini., R.A., Joseph, P., Ramanathan, R., Konda., M.K.R., Dady, G. y Yin, S. (2010). "Packaging-specific influence of chitosan on color stability and lipid oxidation in refrigerated ground beef". *Meat Science* 86: 994-998.
- Summo, C., Caponio, F. y Pascualone, A. (2006). "Effect of vacuum-packaging storage on the quality level of ripened sausages". *Meat Science* 74: 249-254.
- Sunesen, L.O., Dorigoni, V., Zanardi, E. y Stahnke, L. (2001). "Volatile compounds released during ripening in Italian dried sausage". *Meat Sci.* 58: 93-97.
- Sunesen, L.O. y Stahnke, L. (2003). "Mould starter cultures for dry sausages-selection, applications and effects". *Meat Science* 65: 935-948.
- Sutherland, J.P., Patterson, J.T. y Murray, J.G. (1975). "Changes in the microbiology of vacuum-packaged beef". *J. Appl. Bacteriol.* 20: 286-298.
- Swallow, K.W. y Low, N.H. (1990). "Analysis and quantitation of the carbohydrates in honey using high performance liquid chromatography". *J. Agric. Food Chem.* 38: 1828-1832.

- Szerman, N., González, C.B., Sancho, A.M., Grigioni, G., Carduza, F. y Vaudagna, S.R. (2012). "Effect of addition of conventional additives and whey proteins concentrates on technological parameters, physico chemical properties, microstructure and sensory attributes of *sous vide* cooked beef muscles". Meat Sci. 90: 701-710.

## T

- Taormina, P.J., Niemira, B.A. y Beuchat, L.R. (2001). "Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power". Int. J. Food Microbiol. 69: 217-225.
- Taylor, A.A. (1972). "Gases in fresh meat packaging". Meat World 5: 3-6.
- Taylor, A.A. (1985). "Packaging fresh meat". En: R.A. Lawrie (Ed.). Developments in meat science 3 (pp. 89-113). Essex, UK: Elsevier Applied Science.
- Taylor, A.A. (1996). "Modified atmosphere packing of meat". En S.A. Raimundo, A Raimundo, M. Severino & F.J.M. Smulders, Meat quality and meat packaging (pp. 301-311). Utrecht, The Netherlands: ECCEAMST.
- Terrab, A., González A.G., Díez, M.J. y Heredia, F.J. (2003). "Characterisation of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis". Eur. Food Res. Technol. 218:88-95.
- Tims, M.J. y Watts, B.M. (1958). "Protection of cooked meats with phosphates". Food Technol. 12(5): 240-243.
- Tomás-Barberán, F.A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B.S. y Anklam, E. (2001). "HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys". J. Sci. Food Agric. 81: 485-496.
- Toth, G., Lemberkovics, E. y Kutasi-Szabo, J. (1987). "The volatile components of some Hungarian honeys and their antimicrobial effects". Ame. Bee J. 127: 496-497.
- Trout, G.R. y Dale, S. (1990). "Prevention of warmed-over flavor in cooked beef: effect of phosphate type, phosphate concentration, a lemon juice/phosphate blend, and beef extract". J. Agric. Food Chem. 38: 665-669.
- Trout, G.R. y Schmidt, G.R. (1984). "The effect of phosphate type and concentration, salt level and method of preparation on binding in beef rolls". J. Food Sci. 49: 687-694.

- Truchado, P., Ferreres, F., Bortolotti, L., Sabatini, A.G. y Tomás-Barberán, F.A. (2008). "Nectar flavonol rhamnosides are markers of acacia (*Robinia pseudacacia*) honey". J. Food Agric. Chem. 56: 8815-8824.
- Tucker, J.M. y Townsend, D.M. (2005). "Alpha tocopherol: roles in prevention and therapy of human disease". Biomedicine & Pharmacotherapy 59: 380-387.
- Turkmen, N., Sardi, F., Poyrazoglu, E.S. y Velioglu, Y.S. (2006). "Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey". Food Chem. 95: 653-657.

## U

- Ulusoy, E., Kolayli, S. y Sarikaya, A.O. (2010). "Antioxidant and antimicrobial activity of different floral origin honeys from Turkey". J. Food Biochem. 34: 321-335.

## V

- Vázquez Martínez, C., de Cos Blanco, A.I. y López, Nomdedeu, C. (2005). "Alimentación y nutrición: manual teórico-práctico". 2ª Edición. Ediciones Díaz de Santos. Madrid.
- Vela, L., de Lorenzo, C. y Pérez, R.A. (2007). "Antioxidant capacity of spanish honeys and its correlation with the polyphenolic content and other physico-chemical properties". J. Sci. Food Agric. 87: 1069-1075.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., De Grae., V. y Debevere, J. (2005). "*In vitro* and *in situ* growth characteristics and behaviour of spoilage organisms associated with anaerobically stored cooked meat products". J. Appl. Microbiol. 98: 33-42.
- Viana, E.S., Comide, L.A.M. y Vanetti, M.C.D. (2005). "Effect of modified atmospheres on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork". Meat Sci. 71: 696-705.
- Vinauskiene, R., Venskutonis, P.R. y Posthumus, M.A. (2002). "Changes of volatile compounds in poultry meat during storage". Proc. 48<sup>th</sup> Cong. Meat Sci. Technol. 292-293.

W

- Wang, G.H. (1992). "Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan". *Journal of Food Protection* 55(11): 916-919.
- Wei, C. y Zhirong, S. (2003). "Determination of total phenolic acid in honey by Folin-Cicolteau colorimetry". *Shipin Yu Fajiao Gongye* 29(12).
- Welmeier, D.M. y Regenstein, J.M. (2004). "Cooking enhances the antioxidant properties of polyphosphates". *Journal of Food Science* 69: 16-23 FCT.
- Weston, R.J. (1999). "Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey". *Food Chemistry* 71: 235-239.
- Weston, R.J. (2000). "The contribution of catalasa and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review". *Food Chem.* 71: 235-239.
- Weston, R.J. y Brocklebank, L.K. (1999). "The oligosaccharide composition of some New Zealand honeys". *Food Chemistry* 64: 33-37.
- Weston R.J., Mitchell K.R. y Allen K.L. (1999). "Antibacterial phenolic components of New Zealand Manuka honey". *Food Chem.* 64: 295-301.
- White, J. W. (1979). "Composition of honey". En. E. Crane (Ed.), *Honey: A comprehensive survey* (pp. 157-158). London: Heinemann.
- Willix, D.J., Molan, P.C. y Harfoot, C.G. (1992). "A comparison of the sensitivity of wound-infecting species of bacteria to the antibacterial activity of manuka honey and other honey". *Journal of Applied Bacteriology* 73: 388-394.
- Wimpfheimer, L., Altman, N.S. y Hotchkiss, J.H. (1990). "Growth of *Listeria monocytogenes* Scott A, serotype 4 and competitive spoilage organism in raw chicken packaged under modified atmospheres and in air". *Int. J. Food Microbiol.* 11: 205-214.
- Wu, H.C., Shiau, C.Y., Chen, H.M. y Chiou, T.K. (2003). "Antioxidant activities of carnosine, anserine, some free amino acids and their combination". *J. Food Drug Anal.* 11: 148-153.

Y

- Yam, K.L., Takhistov, P.T. y Miltz, J. (2005). "Intelligent packaging: Concepts and applications". *Journal of Food Science* 70(1): R1-R10.

**Z**

- Zakrys, P.I., Hogan, S.A., O'Sullivan, M.G., Allen, P. y Kerry, J.P. (2008). "Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere". *Meat Sci.* 79: 648-655.
- Zamora, M.C. y Chirife, J. (2006). "Determination of water activity change due to crystallization in honeys from Argentina". *Food Control* 17: 59-64.
- Zhao, Y., Wells, J.H. y McMillin, K.W. (1994). "Applications of dynamic modified atmosphere packaging systems for fresh red meats: a review". *Muscle Foods* 5: 299-328.
- Zheng, W. y Wang, S.Y. (2001). "Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs". *J. Agric. and Food Chem.* 49(11): 5165-5170.
- Zhou, G.H., Xu, X.L. y Liu, Y. (2010). "Preservation technologies for fresh meat: a review". *Meat Science* 86: 119-128.
- Zhu, L.G. y Brewer, M.S. (1998). "Discoloration of fresh pork as related to muscle and display conditions". *Journal of Food Science* 63: 763-767.